

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Bioquímica

Dissertação

Cabeça de Xara de 'Cachena': Segurança e Qualidade de um
novo Produto Carne Transformado

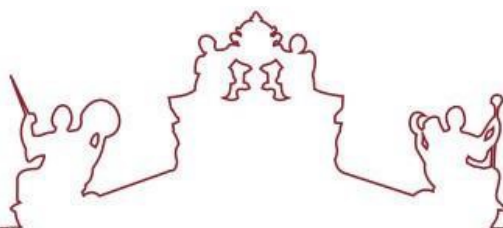
Sofia Isabel Calado da Silva

Orientador(es)

|

Marta Laranjo

Évora 2022



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia´

Mestrado em Bioquímica

Dissertação

Cabeça de Xara de 'Cachena': Segurança e Qualidade de um
novo Produto Carne Transformado

Sofia Isabel Calado da Silva

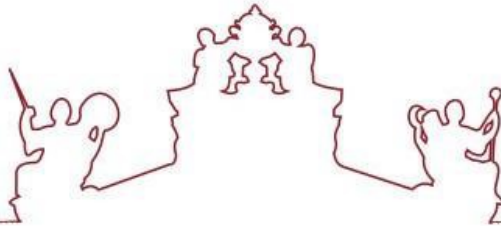
Orientador(es)

|

Marta Laranjo

Évora 2022





Sofia Isabel Calado da Silva

Orientador(es) | Marta Laranjo

A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Alfredo Jorge Palace Carvalho (Universidade de Évora)

Vogais | A.C. Agulheiro Santos (Universidade de Évora) (Arguente)
Marta Laranjo (Universidade de Évora) (Orientador)

Évora 2022



AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e no Laboratório de Tecnologia e Pós-Colheita do MED - Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento da Universidade de Évora, que facultou e garantiu as condições necessárias para a sua realização.

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta dissertação.

À Professora Doutora Marta Laranjo, orientadora desta dissertação, pela constante orientação, pelo enriquecer de conhecimentos científicos, pela simpatia e acessibilidade, pela confiança demonstrada, assim como todo o apoio e esclarecimentos prestados, e pelo incentivo, imprescindível para a realização da dissertação.

Ao Professores Doutores Miguel Elias e Ana Cristina Santos, pela disponibilidade e esclarecimento de dúvidas.

À Sara Ricardo Rodrigues e à Maria Inês Rouxinol, pela paciência, acessibilidade e disponibilidade. Pelo constante apoio e esclarecimentos prestados, em particular no desenrolar da parte experimental, e sem os quais não teria sido possível a realização desta dissertação.

À D. Margarida Romão, técnica do laboratório de nutrição e metabolismo da Universidade de Évora, por todo o apoio e disponibilidade incomparáveis.

Às técnicas do laboratório de microbiologia da Universidade de Évora, Dr.^a Guilhermina Pias e Esperança Coelho, pela simpatia, alento e precioso apoio prestados.

À D. Felicidade pela constante boa disposição e vontade de ajudar.

Ao painel de provadores responsável pela avaliação sensorial dos produtos cárneos.

Aos meus amigos e colegas Teresa Gafanhoto, Joaquim Caeiro e João Nunes por todas as partilhas, cumplicidade, entreaajuda e bons momentos.

Ao Pedro, por ser o meu refúgio, pela partilha, pela ajuda, compreensão e carinho e, principalmente paciência, durante a realização desta dissertação.

À minha família, por acreditarem em mim e me incentivarem a concluir mais uma etapa. Pela motivação, apoio incondicional e carinho demonstrados, não só durante o meu percurso académico, como ao longo de toda a minha vida.

RESUMO

Segurança e Qualidade de um Produto Carne Transformado

Os produtos cárneos transformados constituem uma importante valorização para algumas carnes não consumidas em fresco, como fonte privilegiada de proteína, e devido às propriedades organolépticas particulares de alguns.

Este trabalho teve como objetivo a caracterização em termos de segurança e qualidade de dois novos produtos cárneos transformados semelhantes à tradicional cabeça de xara, um apenas com carne de bovino da raça 'Cachena', e outro com carne de 'Cachena' e de porco.

Realizaram-se análises microbiológicas, físico-químicas (pH, a_w , composição centesimal, cor e textura), e sensoriais.

As análises microbiológicas demonstraram um aumento do número de microrganismos ao longo do tempo. As aminas biogénicas mais abundantes foram putrescina, cadaverina e histamina. As amostras sem carne de porco apresentaram menor percentagem de lípidos, proteína e energia, assim como uma menor elasticidade e dureza. No entanto, obtiveram uma melhor avaliação sensorial.

Ambos os produtos têm potencial para comercialização, dependente, em particular, da melhoria da textura.

Palavras-chave: Produtos cárneos; segurança; qualidade; aminas biogénicas; microbiologia

ABSTRACT

Safety and Quality of a Processed Meat Product

Processed meat products constitute an important value for some meats not consumed in fresh, as a privileged source of protein, and due to their specific organoleptic properties.

The present work aimed to characterise the safety and quality of two new processed meat products, similar to the traditional cabeça de xara, one with only 'Cachena' beef meat, and the other with 'Cachena' and pork meat.

Microbiological, physicochemical (pH, a_w , proximate composition, colour and texture) and sensory analyses were performed.

Microbiological analyses showed an increase in the number of microorganisms over time. The most abundant biogenic amines were putrescine, cadaverine and histamine. The samples without pork had a lower percentage of fat, protein, and energy, as well as a lower elasticity and hardness. However, they obtained a better sensory evaluation.

Both products have potential for commercialization, depending however on the improvement of their texture.

Keywords: Meat products; safety, quality; biogenic amines; microbiology

ÍNDICE

Agradecimentos	iv
Resumo.....	v
Abstract	vi
Índice de tabelas	x
Índice de figuras	xi
Lista de abreviaturas	xii
1. Introdução	1
2. Revisão bibliográfica	2
2.1. Produtos cárneos	3
2.1.1. Legislação aplicável a produtos cárneos	3
2.2. Composição da carne	5
2.2.1. Carne de porco Alentejano	5
2.2.2. Carne de bovino da raça Cachena	6
2.3. Cabeça de xara	6
2.4. Produtos alimentares prontos a consumir.....	8
2.5. Riscos associados ao consumo de produtos cárneos.....	8
2.5.1. Perigos microbiológicos	9
2.5.1.1. Microrganismos.....	10
2.5.1.1.1. Mesófilos e psicrotróficos	10
2.5.1.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	11
2.5.1.1.3. <i>Clostridium perfringens</i>	12
2.5.1.1.1. Enterobactérias	12
2.5.1.1.2. <i>Salmonella</i>	13
2.5.1.1.3. Estafilococos.....	13
2.5.1.1.4. Bactérias do ácido láctico.....	14
2.5.1.1.5. Leveduras e bolores	15
2.5.1.2. Fatores que influenciam a carga microbiana	16
2.5.1.2.1. Temperatura	16
2.5.1.2.2. Atividade da água.....	17
2.5.1.2.3. pH	18
2.5.2. Perigos químicos	18
2.5.2.1. Teor em Sal.....	18

2.5.2.2.	Oxidação lipídica.....	20
2.5.2.2.1.	Estratégias de inibição da oxidação lipídica.....	22
2.6.	Aminas biogénicas.....	23
2.6.1.	Classificação	23
2.6.2.	Funções no organismo	24
2.6.3.	Formação de aminas biogénicas	24
2.6.4.	Efeitos adversos da ingestão de aminas biogénicas	25
2.6.5.	Mecanismos de desintoxicação	25
2.6.6.	Aminas biogénicas nos alimentos	25
2.6.7.	Aminas biogénicas em carne e produtos cárneos.....	26
2.7.	Composição centesimal.....	27
2.7.1.	Teor de humidade	27
2.7.2.	Teor em cinzas.....	28
2.7.3.	Teor em proteína.....	28
2.7.4.	Teor em lípidos.....	28
2.7.5.	Teor em carboidratos	29
2.7.6.	Valor energético	29
2.8.	Medição da cor.....	30
2.9.	Medição da textura	34
2.10.	Análise Sensorial.....	35
3.	Objetivos	37
4.	Materiais e métodos	38
4.1.	Desenho experimental	38
4.2.	Materiais	39
4.3.	Composição centesimal.....	39
4.3.1.	Pré-secagem/liofilização	40
4.3.2.	Teor de humidade	40
4.3.3.	Teor em cinzas.....	42
4.3.4.	Teor em lípidos.....	43
4.3.5.	Proteína.....	45
4.3.6.	Carboidratos.....	46
4.3.7.	Valor energético	46
4.4.	Parâmetros físico-químicos.....	46

4.5.	Parâmetros microbiológicos.....	46
4.6.	Determinação de aminas biogénicas	48
4.7.	Determinação da cor	50
4.8.	Determinação da textura	51
4.9.	Análise sensorial.....	52
4.10.	Análise Estatística.....	52
5.	Análise e discussão de resultados	54
5.1.	Composição centesimal.....	54
5.2.	Parâmetros físico-químicos.....	58
5.3.	Parâmetros microbiológicos.....	60
5.4.	Determinação de aminas biogénicas	64
5.5.	Determinação da cor	67
5.6.	Determinação da textura	69
5.7.	Análise sensorial.....	71
6.	Conclusões e perspectivas futuras.....	78
7.	Referências.....	81
8.	Anexos.....	106

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Limites estabelecidos pela FSAI, para produtos prontos a consumir. Valores em log ufc/g.	5
Tabela 2: Desenho experimental do estudo.	38
Tabela 3: Ingredientes utilizados na produção da cabeça de xara.	39
Tabela 4: Resumo das metodologias utilizadas nas análises microbiológicas.	47
Tabela 5: Análise de variância para a composição centesimal, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.	55
Tabela 6: ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise da composição centesimal, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.	55
Tabela 7: Análise de variância para os resultados do pH e da a_w , considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.	58
Tabela 8: ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise de pH e a_w , em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.	59
Tabela 9: Análise de variância para os resultados microbiológicos, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.	60
Tabela 10: ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise microbiológica, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.	61
Tabela 11: Análise de variância para as amins biogénicas, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.	64
Tabela 12: ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise do perfil de amins biogénicas (peso fresco), em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.	65
Tabela 13: Análise de variância para os resultados da cor, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.	67
Tabela 14: ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise da cor, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.	68
Tabela 15: Análise de variância para os resultados da textura, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.	70
Tabela 16: ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise do perfil de textura, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.	70
Tabela 17: Análise de variância para os resultados da análise sensorial, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.	72
Tabela 18: ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise da avaliação sensorial, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estados de oxidação-redução da mioglobina.	31
Figura 2: Cor da carne de bovino crua e cozida tendo em conta o estado químico da mioglobina (adaptado de (Claus, 2007)).	32
Figura 3: Diagrama CIELab com a sequência de cores e a orientação do ângulo hue (Adriano et al., 2011).....	33
Figura 4: Representação esquemática do sistema CIELab. (Silva et al., 2016).	34
Figura 5: Amostra após liofilização.	40
Figura 6: Amostras após secagem em estufa a 100°C.	41
Figura 7: Carbonização das amostras.	42
Figura 8: Amostras na mufla, após carbonização.	42
Figura 9: Amostras após saírem da mufla.....	42
Figura 10: Amostras no extrator de Soxhlet.	44
Figura 11: Amostras após saírem do extrator.....	44
Figura 12: Copo de folha de estanho com 0,2g de amostra.	45
Figura 13: Equipamento LECO protein/nitrogen analyser FP-528.....	45
Figura 14: Exemplo do processo de determinação de aminas biogénicas para a amostra 155. 50	
Figura 15: Sonda de penetração múltipla utilizada no ensaio. Fonte: https://robinaanugerah.com/stable-micro-systems-product/texture-analyzer/	51

LISTA DE ABREVIATURAS

a* – coordenada colorimétrica cartesiana (adimensional)

b* – coordenada colorimétrica cartesiana (adimensional)

AB - Aminas biogénicas

AG - Avaliação Global

ALOA - Agar Listeria de Ottaviani & Agosti

ANOVA - Análise de variância

AT - azoto total

a_w - Atividade da água

BAL - Bactérias do ácido láctico

C* - Croma

CIE - *Commission International d'Eclairage*

TC – Teor em Cinzas

CX – Cabeça de xara

DMb - Desoximioglobina

ECP - Enterotoxina de *Clostridium perfringens*

IMAO - inibidor da monoamina oxidase

ISO - *International Organization for Standardization*

h° - Ângulo de cor hue

HACCP - *Hazard Analysis and Critical Control Point* ou Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo

L* – Luminosidade (adimensional)

MMb - Metamioglobina

MRS - *Man, Rogosa & Sharp*

MSA - *Mannitol Salt Agar*

MSC - Matéria seca corrigida

MSI - Matéria seca inicial

MSR - Matéria seca residual

MV - Matéria verde

PB - Proteína bruta

PCBs - Bifenilos policlorados

PCCs - Pontos críticos de controlo

PCR - *Polimerase Chain Reaction* ou Reação em Cadeia da Polimerase

RB - *Rose Bengal Chloramphenicol*

ROS – Espécies reativas de oxigénio

SPR – *Solid Phase Receptors*

SPS – *Sulfite Polymyxin Sulfadiazine*

TA – Tempo de amostragem

TGE – *Tryptone Glucose Extract*

TH – Teor de humidade

TL – Teor em lípidos

TPA – *Texture Profile Analysis*

TP – Tipo de produto

VRBG – *Violet Red Bile Glucose*

1. INTRODUÇÃO

A indústria de carnes e produtos cárneos é uma das mais importantes a nível mundial e, seja pela concorrência feroz do setor ou por exigência dos consumidores, a pesquisa por novos produtos que satisfaçam as suas necessidades é contínua.

Os produtos cárneos são produtos amplamente consumidos e alimentos altamente valiosos para os consumidores, devido às suas propriedades sensoriais e à presença de componentes nutricionais essenciais, como proteínas de alto valor biológico, minerais (ferro, zinco, selénio) e algumas vitaminas (principalmente B6 e B12) (Pérez-Palacios et al., 2019), que nem sempre apresentam o mesmo nível de biodisponibilidade ou qualidade nutricional em fontes que não são de carne (De Smet & Vossen, 2016).

Especificamente em Portugal, existe um padrão muito elevado de consumo de carne e produtos cárneos, em especial de suíno e bovino, e que tem vindo a aumentar ao longo dos anos. Por este motivo, é imperativa a avaliação da sua segurança e qualidade, essenciais para a prevenção dos riscos associados ao seu consumo.

O presente estudo enquadra-se no projeto “Melhoria da qualidade da carne de bovinos da raça Cachena com base em fatores tecnológicos e genéticos.” Atualmente em curso através do grupo operacional “Estudo da qualidade da carne de bovinos da raça Cachena” (QualBov Cachena, 2018).

A valorização da raça Cachena surge pelo facto de se tratar de uma raça autóctone, selecionada naturalmente devido a condições alimentares e meteorológicas adversas, que deram origem a bovinos de pequeno porte, adaptados a regiões montanhosas e com uma elevada rusticidade. Estas características levaram à exploração desta raça no Alentejo. A carne desta raça é caracterizada por uma grande heterogeneidade de tenrura e textura e, por vezes, a dureza de algumas peças inviabiliza a sua comercialização.

A cabeça de xara é uma galantina pronta a consumir típica da região do Alentejo, confeccionada com várias peças de carne de porco, como a cabeça, língua e cartilagens, que lhe conferem um sabor e textura muito apreciados. Assim, uma versão da típica cabeça de xara, mas com carne de bovino da raça Cachena poderá contribuir para uma textura mais agradável, que permitirá aproveitar as peças não viáveis para consumo, por exemplo, como bifes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A segurança e a qualidade dos alimentos são das principais preocupações a nível mundial. Os Centros para Controlo e Prevenção de Doenças (CCPD, EUA) estimam que a cada ano, um em cada seis americanos (cerca de 48 milhões de pessoas) fica doente, 128.000 são hospitalizados e 3.000 morrem de doenças transmitidas por alimentos (*Centers for Disease Control & Prevention*, 2018).

Em 2017, os estados-membros da União Europeia (eu) relataram coletivamente 5.079 surtos de origem alimentar e hídrica (43.400 casos). Seiscentos e quarenta e dois dos surtos foram considerados surtos de origem alimentar de "evidência forte", com 60% deles (≈ 385) atribuídos a alimentos de origem animal, sendo a carne e os seus derivados os alimentos mais frequentemente envolvidos (*European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA-ECDC)*, 2018).

Apesar de várias inovações em biotecnologia alimentar, metodologias modernas e a implementação do sistema de gestão de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo (HACCP - *Hazard Analysis and Critical Control Point*) (*U.S. Food and Drug Administration*, 2018a; *U.S. Food and Drug Administration*, 2018b), surtos de origem alimentar ainda acontecem. Por esse motivo, os investigadores estão constantemente à procura de soluções para prevenir a contaminação dos alimentos por agentes patogénicos.

O HACCP é uma abordagem sistemática e baseada na ciência, usada para identificar perigos específicos para a segurança alimentar e medidas para o controlo de perigos, de modo a garantir a segurança dos alimentos. Os princípios HACCP são usados como uma ferramenta para avaliar os perigos e estabelecer sistemas de controlo que se concentram na prevenção da produção de alimentos inseguros, em vez de confiar no teste do produto final (Mekonen & Melaku, 2014). O HACCP consiste em sete princípios que devem ser seguidos por ordem.

Os sete princípios (Ibrahim, 2020) de um sistema HACCP são:

1. Análise de perigos;
2. Identificação de pontos críticos de controlo (PCCs);
3. Estabelecimento de limites críticos;
4. Implementação de monitorização de PCCs contínua;
5. Implementação de medidas corretivas;
6. Verificação e validação;
7. Documentação e manutenção de registos.

Relativamente ao consumo de carne, este tem aumentado, na maioria dos países, desde 1960, mas especialmente da década de 1980 até hoje. Na Europa, os hábitos alimentares também mudaram substancialmente ao longo dos anos. Enquanto na década de 1960 a disponibilidade de proteína vinha principalmente de produtos derivados de plantas, como o trigo, atualmente, até 58% da disponibilidade de proteína vem de produtos de origem animal. Consequentemente, atualmente, os produtos cárneos constituem a principal fonte de proteínas (28 g de proteína/pessoa/dia), respondendo por 30% do consumo total de calorias (Bonnet et al., 2020). A carne de porco é a carne mais consumida no mundo, seguida de carne de aves, bovinos, ovinos e caprinos (Amaral et al., 2018).

2.1. Produtos cárneos

Segundo o Decreto-Lei n.º 290 de 20 de setembro de 1990, os produtos cárneos são “os produtos à base de carne, fabricados a partir de carnes ou com carne que tenham sofrido um tratamento tal que a superfície de corte à vista, permita verificar o desaparecimento das características da carne fresca.”

Os produtos cárneos são alimentos em que a carne é o ingrediente principal, misturados com outros componentes como lípidos, água, sal e ingredientes de cura, especiarias, entre outros (Cobos & Díaz, 2015). Podem ser definidos como a carne, incluindo lípidos, e a pele, courato, cartilagem e tendões, em quantidades naturalmente associadas à carne utilizada, de qualquer animal ou ave normalmente utilizada para consumo humano (Lumley, 1996).

Os produtos cárneos resultam de vários métodos de processamento de carne fresca, com o objetivo de desenvolver produtos desejáveis e reduzir a perecibilidade durante o transporte e armazenamento (Amaral et al., 2018), e ajudam a valorizar as partes da carcaça que são menos adequadas para o consumo *in natura*, ao mesmo tempo que oferecem sabores distintos, estabilidade no prazo de validade e conveniência (Geeraerts et al., 2019; Leroy et al., 2018).

2.1.1. Legislação aplicável a produtos cárneos

Segundo o Regulamento (CE) Nº 2073/2005 de 15 de novembro de 2005, na sua versão consolidada de 8 de março de 2020 (CE, 2005), relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, os operadores das empresas do setor alimentar devem assegurar que os géneros alimentícios cumprem os critérios microbiológicos pertinentes estabelecidos no Anexo I deste regulamento.

O regulamento estabelece dois tipos de critérios microbiológicos:

- Critérios de segurança que definem a aceitação de um produto ou lote. São aplicáveis aos produtos já no mercado, durante todo o seu prazo de validade.
- Critérios de higiene que definem a aceitação do processo. São aplicáveis apenas durante o processo de fabricação.

De maneira a conseguir dar resposta às condições exigidas neste regulamento, em cada fase da produção, transformação e distribuição de alimentos, incluindo a venda, os operadores das empresas do setor alimentar devem tomar medidas, baseadas nos princípios do HACCP e da aplicação de boas práticas de higiene e segurança alimentar.

Para produtos cárneos prontos para consumo, o regulamento só estabelece limites para microrganismos indicadores de segurança alimentar referindo que, para alimentos prontos para consumo suscetíveis de permitir o crescimento de *Listeria monocytogenes*, deve manter-se uma concentração deste inferior a 100 ufc/g ou 2 log ufc/g, durante todo o período de vida útil do produto.

O documento das “Diretrizes para Interpretação de Resultados de Ensaios Microbiológicos de Alimentos Prontos Para Consumo Colocados no Mercado” proposto pela *Food Safety Authority of Ireland* (FSAI, 2016), apresenta valores limite para microrganismos patogénicos adicionais e acrescenta ainda valores de referência para outros microrganismos indicadores de higiene.

Os resultados dos testes podem ser interpretados como satisfatórios, limítrofes ou insatisfatórios, dependendo da deteção/não deteção de uma toxina microbiana ou número de microrganismos nas amostras alimentares. Um resultado satisfatório indica que os resultados atendem ao limite da diretriz. Um resultado limítrofe significa que os resultados atendem ao limite da diretriz, mas que se aproximam de insatisfatório. Insatisfatório significa que os resultados do teste excedem o limite da diretriz. Caso o resultado de um teste seja insatisfatório, o produto alimentar é considerado inseguro para consumo.

Na **Tabela 1** estão apresentados os valores limite para microrganismos patogénicos (indicadores de segurança) e indicadores de higiene de acordo com a FSAI.

Tabela 1: Limites estabelecidos pela FSAI, para produtos prontos a consumir. Valores expressos em log ufc/g.

RESULTADOS			
	Satisfatórios	Limítrofes	Insatisfatórios
Microrganismos patogénicos			
<i>Clostridium perfringens</i>	1	1-4	>4
Microrganismos indicadores de higiene			
<i>Enterobacteriaceae</i>	<2	2-4	>4
Microrganismos aeróbios totais	6	6-7	≥8

No caso da contagem de microrganismos aeróbios totais, tem que se determinar quais os microrganismos predominantes, sendo que os resultados são considerados insatisfatórios se:

- >6 log ufc/g leveduras,
- >8 log ufc/g bactérias do ácido láctico

2.2. Composição da carne

A carne é composta por aproximadamente 72-75% de água, 21% de compostos nitrogenados (19% de proteínas e 1,5% de compostos de azoto não proteico que incluem nucleótidos, péptidos, creatina e creatinina), 2,5-5% de lípidos, 1% de compostos não nitrogenados (vitaminas) e carboidratos (uma quantidade muito pequena de glicogénio, transformada em ácido láctico durante o período pós-morte), e 1% de cinzas (potássio, fósforo, sódio, cloro, magnésio, cálcio e ferro).

Os compostos mais variáveis são os lípidos, com valores que podem variar entre 1% e 15% (Kauffman, 2012; Keeton & Eddy, 2004). A composição da carne é variável devido à influência de vários fatores: espécie animal, raça, sexo, alimentação, músculos, etc.

2.2.1. Carne de porco Alentejano

O porco alentejano é uma raça autóctone criada na região sul de Portugal, com extrema proximidade genética ao porco ibérico (Muñoz et al., 2018). Pertence ao tipo ibérico e caracteriza-se por apresentar baixa prolificidade (Charneca et al., 2012), baixo crescimento

(exceto em regime de 'montanheira'), e alta atividade adipogénica (Neves et al., 1996) nos estágios iniciais de desenvolvimento.

O porco alentejano é criado para a produção de carnes de alta qualidade, enchidos e produtos de cura a seco. A carne de porco alentejano apresenta um elevado teor em lípidos intramuscular rica em micronutrientes, antioxidantes e ácido oleico, (Martins et al., 2015; Neves et al., 2008) intimamente relacionado à composição de ácidos gordos da ração, e são considerados menos deletérios para a saúde humana do que os lípidos e a carne de porco, ricas em ácidos gordos saturados (Flynn et al., 1992). As altas idades e pesos de abate conferem grande maturidade e melhor sabor às carnes e produtos derivados (Póvoas Janeiro, 1944).

2.2.2. Carne de bovino da raça Cachena

Os bovinos da raça Cachena são de pequeno porte (não chegando a atingir os 1,15 m ao garrote) e são dotados de elevada rusticidade. Podem ser encontrados na alta montanha, em cotas elevadas, acima dos 800 metros e vivem ao ar livre durante praticamente todo o ano (Associação de criadores da raça Cachena, 2010).

Os produtos comercializados por este agrupamento são carcaças de novilhos abatidos entre os 16 e os 18 meses de idade, com peso vivo próximo de 120 kg. A carne é tenra, de cor rósea claro ou pálida e vermelho de claro a escuro. Tem um teor em lípidos intramuscular baixo, de coloração branco-sujo, de consistência firme, ligeiramente húmida e muito suculenta.

Foi identificado que a carne procedente destes animais apresenta uma grande heterogeneidade na sua tenrura e, por vezes, a dureza da carne inviabiliza a sua comercialização (QualBov Cachena, 2018).

2.3. Cabeça de xara

Cabeça de xara (CX) é um produto cárneo pronto a consumir, cuja produção é muito característica numa determinada região de Portugal, o Alentejo. Enquanto alguns acreditam que a iguaria tem origem portuguesa, outros acreditam que esta foi adaptada da sua versão original francesa, *tête d'achar*. É uma galantina geralmente moldada em forma semicilíndrica feita com vários pedaços de carne de porco, nomeadamente cabeças de porco desossadas, língua e tecido cartilaginoso ao qual são adicionados vários condimentos como sal, salsa, vinho e pimenta

(Laranjo et al., 2019). Este tipo de produto tem vida útil curta, geralmente entre um e dois meses (Laranjo et al., 2018), mantido a uma temperatura próxima dos 5 °C.

Existem alguns produtos semelhantes noutros países. Nomeadamente o “*hog head cheese*”, um produto cárneo pronto a consumir típico de Louisiana, na América. A confeção é semelhante à da cabeça de xara. A cabeça, pés, aparas, coração, língua, pele e rins do porco são cozidas até que a carne se separe dos ossos. A mistura é temperada com sal, pimenta e cravinho, canela, noz-moscada e pimenta da Jamaica. Depois de temperada, o caldo gelatinoso em que a carne foi cozida é utilizado para a unir. É um produto rico em tecido conjuntivo, com alto teor de colagénio que gelatiniza e garante propriedades sensoriais típicas (Choe et al., 2013). O uso de vísceras reduz a sua aceitação sensorial, embora tenha a função de potencializar as características desejáveis dos produtos tradicionais e agregar valor aos produtos, tornando-os economicamente viáveis (Toldrá et al., 2012). É um produto altamente suscetível à deterioração e contaminação devido à sua alta atividade da água (a_w) e pH (Jin et al., 2017). Pode ser fonte de disseminação de doenças de origem alimentar devido aos ingredientes utilizados na formulação, como vísceras e outros subprodutos. Esses ingredientes podem resultar em alta contaminação microbiana em caso de cozimento ineficaz durante o processamento (Linscott, 2011).

O “queijo de porco” é o produto equivalente no Brasil. Embora os fabricantes brasileiros utilizem formulações diferentes, de forma geral, a matéria-prima é cozida até atingir uma temperatura interior mínima de 71 °C, durante aproximadamente 120 min. De seguida, é desossada, picada, moída e os ingredientes são adicionados. Após isso, algumas empresas realizam o *inlay* em invólucro artificial (polímeros ou colagénio) ou natural (geralmente estômago de porco), sendo um segundo cozimento opcional, quando o produto atinge a temperatura interior mínima de 68 °C (90-150 min), para facilitar o processo de gelatinização. Outras empresas preferem o método artesanal em que a mistura é moldada, prensada (daí o termo “queijo”) e, após arrefecimento, picado ou não, e embalado. Em ambos os casos, o produto acabado é mantido a 6 °C ou mais frio (Silva Junior et al., 2020).

“Coppa di Testa” é o nome dado ao produto na Itália. O processo de produção passa pela mesma etapa de cozedura, a seguir à qual o produto é temperado com sal e variados temperos, como pimenta, noz-moscada, alho, casca de limão, casca de laranja, erva-doce, azeitonas e amêndoas. Portanto, o processo de produção prevê um tratamento de cozedura da matéria-prima e uma fase subsequente de reexposição ambiental na qual é possível a contaminação por microrganismos. Foi identificado como um produto que pode suportar o crescimento de *L.*

monocytogenes uma vez contaminado com a bactéria, portanto, apresentando um risco potencial para a saúde pública (Bardasi et al., 2010).

2.4. Produtos alimentares prontos a consumir

Segundo o Regulamento (CE) Nº 2073/2005 de 15 de novembro de 2005 (CE, 2005), alimentos prontos a consumir são definidos como “alimentos destinados pelo produtor ou fabricante ao consumo humano direto sem a necessidade de cozimento ou outro processamento eficaz para eliminar ou reduzir a um nível aceitável microrganismos preocupantes.”, pelo que alimentos que o produtor, fabricante ou embalador pretendem que sejam bem cozidos, ou completamente reaquecidos antes do consumo não são considerados prontos para consumo. No entanto, os alimentos que se destinam a ser reaquecidos para fins de palatabilidade, mas que não atingem uma temperatura central de pelo menos 70 °C, são considerados prontos para consumo (FSAI, 2016).

Os alimentos prontos a consumir têm uma vida útil mais curta em comparação com outros alimentos processados, porque não foram submetidos a temperaturas para conservar as propriedades organolépticas. Estes alimentos dependem de etapas de conservação, como ambiente ácido, embalagem utilizada, meio isotónico, refrigeração, etc. Devido à natureza dos alimentos prontos a consumir, o risco de contaminação e contaminação cruzada, que levam a doenças é bastante alto (Ehuwa et al., 2021).

2.5. Riscos associados ao consumo de produtos cárneos

A qualidade dos produtos cárneos normalmente diminui desde o momento da colheita até ao consumo. Essa perda de qualidade é frequentemente atribuída a mudanças físicas, químicas, enzimáticas e microbiológicas, que ocorrem na carne ao longo do tempo (Nair et al., 2019). As reações que deterioram a qualidade dos alimentos são os principais alvos de preservação. Dentro destas, as alterações microbianas adversas na carne são as mais graves, pois comprometem a qualidade e segurança dos alimentos, devido ao crescimento de microrganismos patogénicos e deteriorantes, e potencial presença de toxinas microbianas (Petruzzi et al., 2017).

2.5.1. Perigos microbiológicos

A perecibilidade dos produtos cárneos está associada à elevada quantidade de nutrientes disponíveis para os microrganismos, enquanto o seu pH e teor de humidade costumam ser muito favoráveis ao crescimento e multiplicação de bactérias, leveduras e bolores. Esta natureza altamente perecível da carne e dos produtos cárneos requer técnicas de preservação/processamento adequadas, a fim de impedir os mecanismos microbianos e outros mecanismos de deterioração possíveis (Hygreeva & Pandey, 2016).

Os microrganismos patogénicos causam doenças humanas invasivas ou gastrointestinais leves, graves ou crónicas, ou morte. Os patogénicos virais causam o maior número de casos de doenças transmitidas por alimentos e são uma grande preocupação nos serviços de alimentação, enquanto os agentes parasitários se tornam problemáticos em circunstâncias específicas e em certas áreas geográficas. Os microrganismos deteriorantes resultam em perda de qualidade e encurtamento do prazo de validade, o que leva à redução do fornecimento de alimentos e perdas económicas (Sofos, 2013; Sofos et al., 2013).

No que diz respeito à sua carga e composição microbiana, a carne deve ser vista como um ambiente complexo, pois possui elevada a_w e contém abundância de nutrientes, embora seja bastante pobre em carboidratos e heterogénea quanto à sua composição bioquímica e pH (Toldrá, 2017).

A microbiota presente na carne crua pode originar-se de uma variedade de fontes, cuja configuração inicial normalmente remonta aos matadouros. Nesta fase, ocorre uma contaminação primária das carcaças dos animais, em grande parte de origem intestinal ou cutânea (Nulty et al., 2016). Essa contaminação é ainda afetada por práticas gerais de higiene, técnicas de limpeza usadas para o equipamento e automatização do processo.

Numa etapa seguinte, as condições de processamento e armazenamento têm um impacto principal tanto na carga total quanto na composição do microbioma da carne, geralmente reduzindo a biodiversidade e selecionando grupos taxonómicos específicos (Borilova et al., 2016; Fougy et al., 2016). Os principais fatores responsáveis pelas mudanças na microbiota incluem mudanças na a_w , temperatura, pH, teor de carboidratos, condições atmosféricas e uso de aditivos (Fougy et al., 2016). Em contraste, as ações do processo, como cozedura, irradiação e o uso de conservantes ou outros compostos inibidores normalmente levarão a uma redução das cargas microbianas (Geeraerts et al., 2019).

A carne de suíno constitui uma matriz complexa e rica em nutrientes, facilitando o crescimento microbiano (Cauchie et al., 2020). Portanto, muitos produtos de carne suína crua, e especialmente carne picada de porco, têm vidas úteis relativamente curtas e podem abrigar microrganismos potencialmente patogênicos. A contaminação microbiana pode vir de uma variedade de fontes, das quais as mais importantes são o intestino do porco, a pele do porco e/ou o ambiente de processamento (Cauchie et al., 2020; Peruzy et al., 2019). O desenvolvimento posterior desta microbiota inicial pode ser influenciado por uma ampla gama de fatores subsequentes, como práticas de criação antes do abate, manipulação de porcos, condições ambientais durante o abate, processamento, embalagem e/ou armazenamento (Charnpi et al., 2020; Delhalle et al., 2020; Illikoud et al., 2019; Reichel et al., 2019).

A carne de bovino constitui também um ambiente rico em nutrientes, com condições que favorecem o estabelecimento de um nicho ecológico que favorece o crescimento bacteriano (Geeraerts et al., 2019; Hilgarth et al., 2018). A diversidade microbiana da carne bovina é influenciada pelas práticas de abate, processamento e armazenamento (Xianqin Yang et al., 2020; Xiaoyin Yang et al., 2020).

2.5.1.1. Microrganismos

2.5.1.1.1. Mesófilos e psicrotróficos

Os mesófilos são microrganismos cuja temperatura de crescimento varia entre 20-45 °C, mas têm uma faixa de temperatura ótima de crescimento de 30-39 °C. Constituem a maior parte da contaminação bacteriana inicial, e devem ser capazes de deslocar as espécies psicrotróficas. De particular preocupação são os mesófilos patogênicos como *Salmonella* que, segundo Ehuwa et al. (2021), foi isolada de produtos cárneos mais do que qualquer outro alimento.

De acordo com as definições sugeridas, os psicrotróficos são microrganismos que crescem a temperaturas iguais ou inferiores a 5 °C. No entanto, eles têm a temperatura ideal de crescimento igual ou superior a 20 °C e apresentam crescimento visível em 7–10 dias. Como cerca de 70% da temperatura da biosfera terrestre está abaixo de 5 °C, os psicrotróficos podem ser de diferentes espécies. Essas bactérias são fontes de enzimas, principalmente proteases usadas em diferentes indústrias de alimentos, onde as principais reações devem ser realizadas em baixas temperaturas para salvar o aroma e o sabor dos materiais alimentares e a bioatividade de ingredientes alimentares valiosos, como os péptidos bioativos (Ahangari et al., 2021).

Psicrotróficos patogênicos ambientais conhecidos incluem *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas hydrophila*, algumas estirpes de *Bacillus cereus*,

Clostridium botulinum tipo B, E e F e algumas estirpes de *Escherichia coli* (Tatiana et al., 2016), dos quais apenas a *L. monocytogenes* é considerada como indicador de segurança para produtos prontos a consumir, como a cabeça de xara.

O facto de mesófilos e psicrotróficos sobreviverem em temperaturas de armazenamento (refrigeração) prolongado e temperaturas elevadas (de aquecimento) faz com que sejam os grupos microbiológicos mais preocupantes e desafiantes para este tipo de produtos alimentares.

Algumas das causas de contaminação por estes microrganismos incluem:

1. incumprimento das boas práticas de higiene e fabrico;
2. utilização de matérias-primas de má qualidade;
3. quebra da cadeia de frio;
4. ocorrência de contaminações cruzadas;
5. falha/insuficiente tratamento térmico
6. temperatura/tempo manutenção e/ou conservação não controlados (ex. manutenção a quente ou exposição a frio durante um tempo e temperatura inadequados, permanência prolongada à temperatura ambiente ou a temperaturas de refrigeração) (INSA, 2019).

2.5.1.1.2. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é uma bactéria anaeróbia facultativa do tipo bastonete, Gram-positiva, não formadora de esporos (Chukwuma et al., 2021; Dağ et al., 2013). É um agente patogénico de origem alimentar, responsável pela listeriose. De acordo com a *FoodNet* e a *European Food Safety Agency* (EFSA), as infeções por *L. monocytogenes* estão associadas a uma taxa de mortalidade de aproximadamente 12%, que é a taxa mais alta entre os agentes patogénicos transmitidos por alimentos (EFSA, 2013; Gilliss et al., 2013).

L. monocytogenes é amplamente distribuída no meio ambiente e pode contaminar alimentos por meio do contato com superfícies contaminadas. Esta bactéria tem sido frequentemente encontrada em fábricas de processamento de alimentos, onde se pode tornar residente nas instalações e formar biofilmes em superfícies de processamento de alimentos (Paoli et al., 2005). Pode crescer numa ampla faixa de condições de temperatura (4 °C a 42 °C) (Roberts et al., 2020), e a faixa de pH para o crescimento está entre 4,5 e 9,6 (Noori et al., 2014). É um microrganismo que geralmente cresce bem em carnes próximo ou acima de pH 6,0 e pouco ou nada abaixo de pH 5,0 (Glass & Doyle, 1989), e também tolera sal e nitrito (Huang et al., 2022).

A alimentação pode ser uma fonte importante de contaminação para os animais, sendo que animais adultos podem ser colonizados temporariamente pelo consumo de ração ou água contaminada (Atil et al., 2011).

Carnes prontas a comer cozidas são frequentemente contaminadas com *L. monocytogenes* durante as etapas de pós-processamento (Beresford et al., 2001). A contaminação destes produtos curados e não curados é uma grande preocupação de segurança porque carnes cozidas prontas a comer são consumidas sem aquecimento adicional e *L. monocytogenes* pode proliferar a um nível ameaçador durante o armazenamento refrigerado devido à sua capacidade de crescer na presença de sal de cura em temperatura refrigerada (Roberts et al., 2020).

2.5.1.1.3. *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens é um agente patogénico de Gram-positivo, anaeróbio, formador de esporos e em forma de bastonete que frequentemente existe no intestino de humanos e animais e está presente no ambiente contaminado por fezes (Hassan et al., 2015). É classificado em cinco tipos de toxinas de A a E de acordo com as quatro principais toxinas letais produzidas (alfa, beta, épsilon e iota) (Havelaar et al., 2015; Sim et al., 2014; Uzal et al., 2014).

A intoxicação alimentar por *C. perfringens* tipo A é atualmente a terceira doença de origem alimentar mais comum (McClane, 2007; Olsen et al., 2000). Os sintomas gastrointestinais desta doença são causados por um pequeno grupo de isolados do tipo A que produzem enterotoxina de *C. perfringens* (ECP) (McClane, 2007). Os sintomas incluem náuseas, diarreia aquosa e cólicas abdominais intensas, aparecendo dentro de 6 a 24 horas após o consumo de alimentos com *C. perfringens* (Eriksen et al., 2010).

Carne e produtos cárneos são os veículos mais comuns de intoxicação alimentar tipo A por *C. perfringens* (Labbé, 2000). A intoxicação alimentar ocorre quando a carne contaminada é mal cozida e/ou mantida em temperatura inadequada, permitindo a germinação de esporos e o crescimento de estirpes do tipo A produtoras de enterotoxina em alimentos (McClane et al., 2013). Quando esse alimento contaminado é ingerido, as bactérias esporulam no intestino delgado, momento em que a ECP é produzida. Na conclusão da esporulação, a toxina é libertada no lúmen intestinal quando a célula-mãe sofre lise para libertar o esporo maduro (McClane et al., 2013).

2.5.1.1.1. Enterobactérias

As enterobactérias são uma grande família de bacilos de Gram-negativo que são habitantes normais do trato gastrointestinal de humanos e outros animais (Donnenberg, 2010). Estes organismos são uma causa comum de infeções adquiridas na comunidade e na assistência à

saúde. Para além disto, são um dos mais desafiantes contaminantes bacterianos em produtos de carne crua e processada em todo o mundo. Não são resistentes ao calor, pelo que a sua presença em alimentos cozidos prontos a consumir é indicativo de um cozimento inadequado ou contaminação pós-processamento, o que faz deles bons indicadores do cumprimento das boas práticas de higiene no fim do processo de fabrico de alimentos sujeitos a tratamento térmico. *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Proteus* e *Klebsiella* incluem algumas das bactérias mais predominantes em casos de intoxicação alimentar associados a produtos cárneos (Al-Mutairi, 2011).

2.5.1.1.2. *Salmonella*

As bactérias do género *Salmonella* são de Gram-negativo, facultativamente anaeróbias, não formadoras de esporos, geralmente bastonetes móveis e pertencentes à família das enterobactérias, que estão associados ao trato alimentar dos animais (Cosby et al., 2015). Têm uma temperatura ideal de multiplicação de 37 °C e pH de aproximadamente 4,0-9,0, com um ótimo em torno de 7,0 (Gast & Porter, 2019).

Embora seja uma bactéria intestinal, está disseminada no meio ambiente e comumente encontrada em efluentes agrícolas e em qualquer material sujeito a contaminação fecal (Liebana et al., 2003; Martinez-Urtaza et al., 2004). Assim, a *Salmonella* permanece como um importante agente patogénico de origem alimentar em todo o mundo (Alakomi & Saarela, 2009). Os produtos alimentares de origem animal são considerados a principal fonte de infeções por *Salmonella* humana (Plym Forshell & Wierup, 2006), sendo o consumo de carnes e derivados contaminados a principal causa de surtos de salmonelose (Elizaquível et al., 2009).

Os sintomas de salmonelose incluem diarreia, dor abdominal, náuseas e vómitos com duração de 1 a 7 dias, e a doença geralmente é autolimitada em adultos saudáveis com uma taxa de mortalidade de <1% (Andrews et al., 2001). Em casos graves, a infeção pode progredir para septicemia e morte, a menos que a pessoa seja prontamente tratada com os antimicrobianos apropriados, atualmente fluoroquinolonas, macrólidos e cefalosporinas de terceira geração (Cosby et al., 2015).

2.5.1.1.3. *Estafilococos*

Os estafilococos são cocos de Gram-positivo pertencentes à família *Staphylococcaceae*, que produzem catalase e formam aglomerados na coloração de Gram (Gulzar & Zehra, 2018). O género *Staphylococcus* atualmente compreende mais de 50 espécies, todas conhecidas como colonizadores comuns da pele e das membranas mucosas de muitas espécies animais, incluindo

humanos. Uma dessas espécies é *Staphylococcus aureus*, um dos microrganismos patogênicos mais importantes em humanos e animais e uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo (Fetsch & Johler, 2018).

A intoxicação alimentar provocada por *S. aureus* é causada pela ingestão de uma quantidade suficiente de uma ou várias enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas nos alimentos durante o crescimento do organismo (Fetsch & Johler, 2018), e os sintomas a esta associados incluem início repentino de náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia (Kadariya et al., 2014).

De vários produtos alimentícios pesquisados, carnes e produtos cárneos são amplamente conhecidos por serem um importante reservatório para *S. aureus* e envolvidos em vários surtos (Aydin et al., 2011; Hennekinne et al., 2012; Wang et al., 2013).

Os estafilococos de coagulase-negativa são capazes de reduzir o nitrato e degradar o peróxido de hidrogênio, o que constitui uma vantagem ao nível de qualidade e estabilidade de cor, e metabolizar compostos nitrogenados e lipídicos, melhorando o sabor (Laranjo, Fraqueza, et al., 2017). Têm ainda a capacidade de libertar enzimas, lípases e proteases capazes de formar compostos de baixo peso molecular, que influenciam na textura e no desenvolvimento de compostos de aroma (Cocconcelli & Fontana, 2015). Um exemplo de estafilococos de coagulase-negativa é *S. saprophyticus*, um colonizador frequente do trato gastrointestinal humano, cérvix, uretra, vagina, períneo e reto, que coloniza o intestino e a pele de animais produtores de alimentos. Fraqueza et al. (2021) relatou que, apenas dentro do ambiente do matadouro a contaminação por *S. saprophyticus* pode chegar a 35%.

2.5.1.1.4. Bactérias do ácido láctico

As bactérias do ácido láctico (BAL) são de Gram-positivo, geralmente não móveis e não formadoras de esporos, em forma de bastões e cocos. Não têm a capacidade de sintetizar citocromos e porfirinas (componentes da cadeia respiratória) e, portanto, não podem gerar ATP pela criação de um gradiente de prótons. As BAL só podem obter ATP por fermentação, geralmente de açúcares. Como não usam oxigênio na produção de energia, crescem em condições anaeróbias, mas também podem crescer na presença de oxigênio (Khalisanni, 2011). As BAL estão geralmente associadas a habitats ricos em nutrientes que contêm carboidratos solúveis, vitaminas e proteínas disponíveis e têm baixa tensão de oxigênio, como vários produtos alimentares (leite, carne, vegetais), mas algumas também são frequentemente localizados em estrume e águas residuais e no trato intestinal e membranas mucosas de mamíferos (López-Cuellar et al., 2016).

As BAL são agentes essenciais durante a fermentação da carne, melhorando a qualidade higiénica e sensorial do produto final. O seu metabolismo fermentativo evita o desenvolvimento

de deterioração e microflora patogénica pela acidificação do produto, contribuindo também para a estabilização da cor e melhoria da textura. Na verdade, juntamente com fatores alimentares intrínsecos, como pH e temperatura, podem prejudicar o crescimento de microrganismos patogénicos e deteriorantes, tornando os produtos mais seguros mesmo sem o uso de técnicas de conservação, como ambientes modificados, tratamentos de alta pressão, e conservantes químicos (Kröckel, 2013). As BAL influenciam fortemente a composição de compostos não voláteis e voláteis por meio da libertação/degradação de aminoácidos livres e a oxidação de ácidos gordos livres insaturados também é evitada (Talon et al., 2002).

As estirpes geralmente consideradas em carnes e produtos cárneos são: *Carnobacterium piscicola* e *C. divergens*; *Latilactobacillus sakei*, *Latilactobacillus curvatus* e *Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Le. gelidum* e *Le. carnosum* (Zheng et al., 2020).

O crescimento de BAL na carne pode causar interferência microbiana para deterioração e bactérias patogénicas por meio de vários mecanismos, como competição de nutrientes e oxigénio, competição por locais de fixação/adesão e produção de uma ampla gama de substâncias inibidoras, principalmente ácido láctico ou ácidos láctico e acético, acetoína, diacetil, peróxido de hidrogénio, reuterina e bacteriocinas (Hugas, 1998). As bacteriocinas são péptidos sintetizados naturalmente pelos ribossomas, produzidos tanto por bactérias de Gram-positivo como por bactérias de Gram-negativo, o que permitirá que esses produtores de bacteriocinas sobrevivam num ambiente polimicrobiano altamente competitivo. As bacteriocinas apresentam atividade antimicrobiana com espectro variável dependendo do péptido, que pode atingir diversas bactérias (Simons et al., 2020).

2.5.1.1.5. Leveduras e bolores

Definido morfológicamente, uma levedura é um fungo unicelular (formas esféricas a elipsoides) que se reproduz por brotamento simples ou fissão. O tamanho e a forma das células dentro de uma estirpe são os mesmos quando a levedura é propagada em condições idênticas e podem mudar com o nutriente e o ambiente. A célula de levedura pode alongar-se para formar hifas, estruturas compostas por longos fios ramificados agregados e organizados para suportar esporos para reprodução e disseminação. As hifas estendem-se e ramificam-se dentro do substrato de suporte como uma rede, denominada micélio, da qual as hifas exploram e deslocam os nutrientes disponíveis (Walker & White, 2017).

Os bolores são fungos multicelulares complexos que produzem esporos sexuais e assexuais. Eles crescem por germinação de esporos sexuais ou assexuais e alongamento do talo (uma célula completa) em hifas, que podem ser septadas ou não. As hifas entrelaçadas formarão um

complexo denominado micélio, que aparece como um crescimento difuso e algodoado no ambiente e em carnes, alimentos, roupas, paredes, papel e outros materiais (Fung, 2014).

Leveduras e bolores são microrganismos importantes relacionados ao bem-estar humano e aos recursos alimentares. No entanto, em condições especiais, eles podem atuar como organismos potencialmente deteriorantes de alimentos, especialmente em alimentos processados, conservados e refrigerados.

Embora leveduras e bolores normalmente não sejam uma grande preocupação para a maioria dos produtores e processadores de carnes, sob condições como secagem, cura, congelamento e uso de agentes conservantes, leveduras e bolores podem competir efetivamente com bactérias e tornar-se a microflora dominante. O conhecimento de como certas leveduras e bolores colonizam produtos cárneos e os seus efeitos sobre esses produtos é essencial para evitar perdas económicas durante a deterioração ou para maximizar a fermentação desejável de certos produtos cárneos curados por leveduras e bolores. Ocasionalmente, algumas leveduras e fungos patogénicos podem ocorrer em carnes e produtos cárneos e podem representar problemas de segurança alimentar nesses produtos (Fung, 2014).

Jay (1998) indicou que leveduras comuns encontradas em carnes frescas e refrigeradas incluem *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaromyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Phodotorula*, *Saccharomyces*, *Torulopsis* e *Trichosporon*, e que os fungos comuns encontrados incluem *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Monilia*, *Mucor*, *Neurospora*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Sporitrichum* e *Thamnidium*.

Segundo o INSA (2019), níveis de leveduras $>6 \log \text{ ufc/g}$ podem conferir uma alteração de sabor ao produto e níveis de $6-7 \log \text{ ufc/g}$ podem causar deterioração devido à produção de ácido e de gás.

Em níveis normais, as BAL, os estafilococos de coagulase-negativa e as leveduras são considerados como microbiota tecnológica, uma vez que estão envolvidos no desenvolvimento de qualidades sensoriais e higiénicas do produto final.

2.5.1.2. Fatores que influenciam a carga microbiana

2.5.1.2.1. Temperatura

A temperatura é dos fatores que mais afetam o estabelecimento de comunidades microbianas durante o armazenamento de carnes e produtos cárneos. Afeta a deterioração da carne,

afetando a duração da fase de latência, a taxa máxima de crescimento específico e o número final de células (Mataragas et al., 2006; Odeyemi et al., 2020).

Em geral, o controle da temperatura varia de refrigeração (geralmente definido dentro de uma faixa de 4-7°C) a condições de congelamento (Geeraerts et al., 2019). O congelamento tem grandes vantagens no prolongamento da vida útil da carne devido às baixas temperaturas: interrompe o crescimento microbiano e retarda as reações químicas e bioquímicas. O efeito do congelamento na composição química da carne depende da taxa de congelamento, das condições de armazenamento e do método de descongelamento (Cobos & Díaz, 2015).

Não há evidências de quaisquer efeitos do congelamento e descongelamento no sabor da carne, embora possa ser alterado durante o armazenamento congelado. Isso é causado principalmente pela oxidação de lípidos que resulta em "sabores estranhos" ou "sabores rançosos" indesejáveis, que são um grande obstáculo para o armazenamento congelado de longo prazo. (Belitz et al., 2009; Estévez, 2011; James & James, 2010).

2.5.1.2.2. Atividade da água

A a_w é um fator importante na prevenção ou limitação do crescimento microbiano. Em vários casos, é o principal parâmetro responsável pela estabilidade dos alimentos, modulando a resposta microbiana e determinando o tipo de microrganismos encontrados nos alimentos. Ao longo da história, a atividade da água sozinha ou em combinação com outros parâmetros ambientais tem sido a base de muitos métodos de preservação de alimentos. A desidratação de alimentos, por exemplo, é uma tecnologia antiga baseada no princípio relativamente moderno de redução da a_w . Atualmente, os produtos secos e desidratados exibem um alto nível de popularidade entre os consumidores pois são económicos e convenientes, tendo maior vida útil, custo reduzido, embalagem reduzida e melhores propriedades de manuseamento, transporte e envio (Tapia et al., 2020).

A demonstração clássica de Scott (1953) - que não é o conteúdo de água, mas a a_w de um sistema alimentar que conduz o crescimento microbiano e a produção de toxina— - mostrou que os microrganismos têm um nível de a_w limitante abaixo do qual não crescem ou produzem toxinas. Assim, o valor mínimo de a_w para crescimento surgiu como um dos parâmetros mais investigados, que determinam as relações hídricas dos microrganismos nos alimentos. Este valor mínimo de a_w define, em teoria, o nível abaixo do qual um microrganismo ou grupo de microrganismos não se pode reproduzir, mesmo que outros mais resistentes e adaptáveis à redução da a_w possam crescer e comprometer a segurança do produto. Como num alimento é

extremamente difícil isolar as respostas apenas a a_w , os valores mínimos deste devem ser obtidos em sistemas modelo de laboratório, em que todos os outros fatores que influenciam a resposta microbiana (pH, potencial redox, temperatura, disponibilidade de nutrientes, etc.) estão nos seus valores ótimos. Assim, a a_w deve servir de referência e nível de segurança no desenvolvimento de produtos alimentícios (Tapia et al., 2020).

2.5.1.2.3. pH

A medição do pH da carne é usada para avaliar a vida útil e a qualidade da carcaça. O valor do pH é um indicador da manutenção da qualidade da carne e sua adequação para vários métodos de processamento (Zhang et al., 2016).

O pH da carne e a disponibilidade de nutrientes afetam a seleção e o crescimento das bactérias. Normalmente, o pH muscular diminui *post mortem* para valores entre 5,4 e 5,8. Um pH final alto (> 6,0) pode ser o resultado do stresse do animal vivo. Os tecidos adiposos também têm um pH mais alto do que a carne normal. A carne contém cerca de 0,2% de glicose e 0,4% de aminoácidos. No tecido adiposo e na carne com pH alto, os níveis de nutrientes bacterianos são mais baixos. A carne com pH alto e o tecido adiposo deterioram-se mais rapidamente do que a carne com pH normal, uma vez que os aminoácidos são atacados rapidamente (Borch et al., 1996).

2.5.2. Perigos químicos

Apesar das vantagens nutricionais associadas ao consumo de carne e produtos cárneos, a imagem associada a estes tem sido afetada negativamente nas últimas décadas, por parte da imprensa, principalmente devido ao alto teor de sal e lípidos, ácidos gordos saturados, aditivos sintéticos e colesterol, e a sua associação a diversas doenças crónicas como obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes tipo-2 e vários tipos de cancro (Saldaña et al., 2021). Portanto, nas últimas décadas tem sido recomendada a restrição do consumo de carnes vermelhas e processadas, o que tem influenciado negativamente a perceção do consumidor sobre os produtos cárneos (Ekmekcioglu et al., 2018).

2.5.2.1. Teor em Sal

O cloreto de sódio (NaCl) é a principal fonte de sódio na dieta (cerca de 90%) (Kameník et al., 2017), e foi comprovado que a sua ingestão excessiva está relacionada a vários problemas de saúde, como hipertensão, distúrbios inflamatórios, cancro de estômago (Petit et al., 2019), e

pode aumentar o risco de acidentes vasculares cerebrais e morte por doenças vasculares (Barretto et al., 2018).

O sal pode ser encontrado numa ampla variedade de alimentos para fins tecnológicos e sensoriais. À medida que são processados, os níveis de sal desses alimentos tendem a aumentar, ou seja, a carne bovina crua contém 0,16 g de sal/100 g e hambúrgueres de carne 0,7-1 g de sal/100 g de produto (Inguglia et al., 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as pessoas consomem em média 9 a 12 g de sal/dia; cerca de duas vezes o nível máximo de ingestão recomendado (5 g de sal/dia equivalente a 2 g de Na/dia) em adultos. Essas quantidades representam um risco à saúde, daí a importância de reduzir o teor de sal em alimentos processados, incluindo produtos cárneos (Gómez-Salazar et al., 2021).

Apesar dos benefícios para a saúde associados à redução de sal, podem surgir algumas questões sobre a segurança dos produtos e propriedades sensoriais (Laranjo et al., 2016). Como ingrediente, o sal desempenha um importante papel em produtos cárneos, potencializando as suas propriedades sensoriais (sabor, textura e cor) e capacidade de retenção de água (CRA), afetando a textura, a capacidade de ligação da carne e do teor em lípidos (Laranjo et al., 2016), além de contribuir na extração de proteínas miofibrilares para aumentar a maciez e suculência (Petit et al., 2019). Este tem ainda efeito inibitório contra patógenos alimentares, principalmente pela redução da a_w , pela atração química das moléculas de água e pelo eventual efeito direto do íão cloreto (Elias et al., 2021). Por outro lado, o aumento do crescimento microbiano em condições de baixo teor de sal contribui para o aumento do teor de aminas biogénicas (AB). As descarboxilases bacterianas libertadas podem remover o grupo carboxilo dos aminoácidos, levando à acumulação de AB, muitas vezes associadas a reações adversas dos consumidores (Alvarez & Moreno-Arribas, 2014). Além disso, devido às suas propriedades oxidativas, diferentes teores de sal também podem levar a alterações no perfil de oxidação lipídica. O sal atua como um agente de ligação em emulsões e prolonga a vida útil dos produtos cárneos (Barretto et al., 2018). Assim, é um composto essencial para se obter um produto cárneo de boa qualidade. As estratégias mais amplamente utilizadas para reduzir os níveis de sódio em produtos cárneos são a substituição por outros sais e substitutos como cloreto de potássio, lactato de sódio, lactato de potássio, etc. (Hygreeva & Pandey, 2016).

2.5.2.2. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração da qualidade da carne e seus derivados. Os lípidos são compostos de importância vital para a nutrição humana adequada. Além de fornecer energia aos processos biológicos do corpo, os lípidos contêm um grande número de substâncias, como ácidos gordos essenciais ou vitaminas solúveis em lípidos, que só podem ser fornecidas pela dieta (Domínguez et al., 2019). Além disso, os lípidos são responsáveis por muitas características desejáveis na carne e produtos cárneos, pois influenciam o sabor e contribuem para melhorar a maciez e suculência dos mesmos (Amaral et al., 2018). Portanto, o conteúdo e a composição de lípidos são de grande importância para os consumidores devido à sua importância para a qualidade e valor nutricional da carne (Domínguez et al., 2019).

No entanto, os lípidos são suscetíveis à degradação. A oxidação lipídica é a principal causa da deterioração química da carne e provavelmente começa nos músculos do animal vivo e intensifica-se após o abate devido às mudanças no ambiente e à perda da capacidade antioxidante intrínseca (Amaral et al., 2018). Portanto, todos os processos intermediários (manuseamento, processamento e armazenamento) devem ser cuidadosamente controlados a fim de evitar essas reações (Richards, 2006). Vários fatores influenciam a taxa e intensidade da oxidação lipídica na carne, entre eles alguns eventos pré-abate, como stresse e lesões físicas, e eventos pós-abate, como pH e temperatura da carcaça. Além disso, os parâmetros de processamento também influenciam a estabilidade oxidativa dos produtos cárneos, como a composição e qualidade da carne crua, cozimento ou aquecimento, trituração (moagem ou picagem), uso de aditivos como sal, nitrito, especiarias e antioxidantes, tipo de embalagem, bem como a temperatura de distribuição e armazenamento, entre outros fatores (Erickson, 2008).

Os atributos de qualidade mais importantes que são influenciados pela oxidação lipídica incluem propriedades sensoriais (sabor, cor, textura), mas também propriedades nutritivas e funcionais (CRA e capacidade de emulsificação) da carne (Torrico et al., 2018). Entre eles, as propriedades sensoriais - aparência/cor, textura e sabor - são os principais fatores que os consumidores usam para avaliar a qualidade da carne (Huang & Ahn, 2019). Além disso, vários compostos tóxicos são produzidos durante a oxidação de lípidos. Vários autores concluem que um dos problemas mais importantes na oxidação lipídica é a geração de compostos nocivos que envolvem várias patologias humanas, incluindo aterosclerose, cancro, inflamação e processos de envelhecimento, entre outras (Alfaia et al., 2010; Broncano et al., 2009; Pereira & Abreu, 2018). Considerando que “qualidade” e “saúde” são conhecidos como alguns dos fatores mais

importantes que influenciam a escolha dos alimentos, e que aparência, cor, textura, sabor e aroma são os principais atributos de qualidade que afetam a aceitação da carne, o controle, ou pelo menos a minimização do processo de oxidação lipídica é de grande interesse para a indústria de alimentos (Brøndum et al., 2000).

A oxidação lipídica é um fenómeno complexo que ocorre na presença de oxigénio, enzimaticamente ou não enzimaticamente, e é induzida ou catalisada por luz, calor, fotossensibilizadores, metais e espécies reativas de oxigénio (ROS) e azoto. A oxidação não enzimática pode ocorrer por dois mecanismos: auto-oxidação e foto-oxidação. Os dois mecanismos dependem da presença de oxigénio; a auto-oxidação ocorre na presença de oxigénio molecular ou tripleto, enquanto a foto-oxidação ocorre na presença de oxigénio singleto. A oxidação enzimática ocorre pela ação da lipoxigenase e difere dos processos oxidativos não enzimáticos (Mariutti & Bragagnolo, 2017). Entre os três mecanismos, a auto-oxidação, que é uma reação em cadeia contínua de radical livre, é o processo mais importante da oxidação de lípidos na carne (Amaral et al., 2018; Erickson, 2002; JH, 2016).

Os mecanismos enzimáticos e de foto-oxidação diferem da auto-oxidação apenas na formação de hidroperóxidos, durante a fase de iniciação (Chaijan & Panpipat, 2017). O mecanismo dos radicais livres, apesar de explicar muitas das mudanças observadas na carne, não fornece uma descrição detalhada e completa das mudanças produzidas nos reagentes e produtos derivados durante o processo de oxidação. Portanto, o principal desafio é completar o esquema que possa explicar completamente todos os agentes, produtos intermediários e reações envolvidas (Ghnimi et al., 2017).

Como comentado acima, a auto-oxidação é o principal processo pelo qual os ácidos gordos insaturados e o oxigénio interagem e, portanto, produzem uma deterioração oxidativa da carne e dos seus produtos (Chaijan & Panpipat, 2017; Erickson, 2002), resultando no desenvolvimento de odor desagradável e na formação de compostos tóxicos (por exemplo, cancerígenos); causa perda de propriedades funcionais e valor nutricional e alterações na cor da carne (Soladoye et al., 2015). A auto-oxidação é um fenómeno químico muito complexo que envolve reações radicais de autoprogramação e depende da ação catalítica (temperatura, pH, iões metálicos e radicais livres). O mecanismo geral de oxidação inclui três etapas: iniciação, em que os radicais livres ocorrem; propagação, na qual o número de compostos reativos é multiplicado; terminação, em que os compostos reativos degradam ou reagem uns com os outros para dar compostos não reativos (JH, 2016).

Normalmente, carnes e produtos cárneos são expostos diretamente à luz no supermercado para serem atraentes aos consumidores. Este fato promove o processo de foto-oxidação, que é muito mais rápido que a auto-oxidação (Lorenzo et al., 2017). A foto-oxidação é facilitada por energia radiante, principalmente radiação ultravioleta, na presença de sensibilizantes como a mioglobina, e envolve a participação de reações radicais resultando na formação de hidroperóxidos diferentes daqueles formados na ausência de luz e sensibilizantes (Lorenzo & Gómez, 2012).

Além dos mecanismos não enzimáticos explicados, há também o mecanismo mediado por enzimas que inicia a oxidação lipídica. Como ocorre na foto-oxidação, a principal diferença entre a oxidação lipídica catalisada por enzima e a iniciação por radical livre é a formação de hidroperóxidos (Domínguez et al., 2019). A principal enzima envolvida na oxidação enzimática é a lipoxigenase, enzima que oxida ácidos gordos levando à adição de oxigênio à cadeia de hidrocarbonetos. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com ligações duplas conjugadas, que podem sofrer diferentes reações degenerativas, formando diversos produtos (Lima Júnior et al., 2013; Lorenzo & Gómez, 2012).

2.5.2.2.1. Estratégias de inibição da oxidação lipídica

Tendo em consideração tudo o que foi mencionado acima, parece claro que a vida útil da carne é determinada pelo momento em que o consumidor é capaz de detectar os produtos de oxidação que conferem ranço (principalmente voláteis) ou observar mudanças na cor da carne (Barden & Decker, 2013). A principal estratégia usada pela indústria da carne para inibir a oxidação de lípidos é a adição de antioxidantes à carne e seus derivados (Cunha et al., 2018; Echegaray et al., 2018; Munekata et al., 2018; Pateiro et al., 2018). No entanto, hoje em dia os consumidores exigem mais produtos naturais, o que limita a indústria no uso dos antioxidantes sintéticos atualmente permitidos em alimentos, deixando os fabricantes com poucas opções (Barden & Decker, 2013). Assim, produtos tradicionais devem ser reformulados, substituindo parte do teor em lípidos animal por fontes de ácidos gordos polinsaturados (Carvalho et al., 2019). No entanto, isso tem um grande efeito na vida útil e na estabilidade oxidativa dos produtos cárneos. Para contornar esse problema, diversas linhas de pesquisa estão em franco crescimento, principalmente com foco na obtenção de antioxidantes naturais que substituam os aditivos sintéticos e no uso de embalagens ativas e inteligentes para tentar controlar a possível evolução da oxidação (Domínguez et al., 2018).

Os antioxidantes naturais são um grupo heterogêneo de substâncias com diferentes características químicas, amplamente encontradas em plantas e matrizes derivadas de plantas

(Oswell et al., 2018). Conforme divulgado na literatura científica, os antioxidantes são adicionados aos alimentos com o intuito de retardar ou inibir a oxidação, agindo na iniciação ou propagação de reações em cadeia de oxidação (Gómez et al., 2018). Digno de nota, vários trabalhos relataram que diferentes extratos de plantas, que contribuem para o estado de saúde dos consumidores, podem até ter uma capacidade antioxidante mais forte do que os antioxidantes sintéticos (Jayawardana et al., 2019; Y. Y. Zhang et al., 2018). Consequentemente, devido à sua atividade, os antioxidantes naturais também podem proteger componentes celulares biologicamente importantes dos processos oxidativos causados por ROS (Lin et al., 2018).

2.6. Aminas biogénicas

2.6.1. Classificação

As aminas biogénicas (AB) são bases orgânicas de baixo peso molecular que possuem atividade biológica. Estas podem ser formadas e degradadas como resultado da atividade metabólica normal em animais, plantas e microrganismos e geralmente são produzidas pela descarboxilação de aminoácidos livres ou por aminação e transaminação de aldeídos e cetonas (Stadnik & Dolatowski, 2010).

As AB podem ser classificadas tendo em conta a sua estrutura química, como: alifáticas (putrescina, cadaverina, espermina, espermidina), aromáticas (tiramina, β -feniletilamina) ou heterocíclicas (histamina, triptamina) (Alberto et al., 2002; Bouchereau et al., 2000; Kaniou et al., 2001; Karovičová & Kohajdová, 2005; Önal, 2007; Suzzi & Gardini, 2003).

Dado o número de grupos amina presentes, podem ser classificadas como monoaminas (tiramina, β -feniletilamina), diaminas (histamina, serotonina, triptamina, putrescina e cadaverina) ou poliaminas (espermina, espermidina e agmatina) (Elias et al., 2018).

De acordo com a sua origem, podem ser consideradas naturais ou endógenas (espermina e espermidina), quando ocorrem naturalmente no organismo humano, ou biogénicas ou exógenas (histamina, serotonina, tiramina, β -feniletilamina, triptamina, putrescina, cadaverina e agmatina), que resultam da atividade de microrganismos (Bover-Cid et al., 2014).

2.6.2. Funções no organismo

As aminas biogenicamente ativas são compostos formados e decompostos por processos metabólicos usuais nas células dos organismos vivos. No ser humano, as AB sintetizadas endogenamente cumprem uma série de funções no metabolismo celular (Önal, 2007). Estas são fonte de azoto e precursoras para a síntese de hormonas, alcaloides, ácidos nucleicos e proteínas. Também podem influenciar processos no organismo, como a regulação da temperatura corporal, a ingestão de alimentos e o controlo da pressão arterial (Bouchereau et al., 2000). A tiramina e a histamina também atuam como mediadores hormonais em humanos e animais, mas são reconhecidas como potenciais perigos para a saúde, causando sintomas de intoxicação e intolerância em pessoas saudáveis. As aminas biogénicas são geralmente psicoativas ou vasoativas. As aminas psicoativas, como a dopamina e a serotonina são neurotransmissores do sistema nervoso central (SNC) (Önal, 2007). As aminas vasoativas atuam direta ou indiretamente no sistema vascular. A intolerância alimentar farmacológica é causada por aminas vasoativas e outras substâncias presentes nos alimentos, todas manifestando atividade farmacológica. Na maioria dos casos, existe uma relação dose-efeito (Ortolani & Pastorello, 2006). As aminas vasoativas incluem histamina, β -feniletilamina, triptamina e tiramina (Prester, 2016).

As AB são fisiologicamente importantes, pois são neurotransmissores distribuídos no cérebro, onde desempenham um papel no comportamento emocional e auxiliam na regulação do relógio biológico. São transmitidas localmente ou através do sistema sanguíneo. As aminas exógenas são absorvidas diretamente dos alimentos no intestino. O álcool pode aumentar a taxa de absorção (Elias et al., 2018).

2.6.3. Formação de aminas biogénicas

As descarboxilases de aminoácidos são enzimas presentes em muitos microrganismos que podem estar naturalmente presentes em produtos alimentícios, ou podem ser introduzidas por contaminação antes, durante ou após o processamento de alimentos. As descarboxilases bacterianas não são muito específicas, mas a sua atividade varia de acordo com a espécie e género bacterianos (Jairath et al., 2015). Assim, a formação de AB requer a presença de aminoácidos livres, a enzima descarboxilase e condições ambientais adequadas. Portanto, todos os fatores que influenciam a produção do substrato (aminoácidos livres), da enzima, e também do seu nível de atividade, afetam o tipo e a quantidade de AB presentes em cada caso. Fatores associados à matéria-prima (composição da carne, pH, condições de manuseamento, etc.) como

fonte de substrato e meio de reação afetam diretamente a disponibilidade de aminoácidos livres, enquanto a presença da enzima está intimamente ligada a aspectos microbiológicos (espécie bacteriana e gênero, crescimento bacteriano, etc.) (Ruiz-Capillas & Jiménez-Colmenero, 2005).

2.6.4. Efeitos adversos da ingestão de amins biogénicas

A ingestão de alimentos com grandes quantidades de AB pode causar efeitos adversos importantes, como cefaleia, hipotensão ou hipertensão, palpitações cardíacas e desconforto respiratório (Anl & Bayram, 2008).

O grau de intoxicação depende da quantidade e do tipo de AB ingerido e do funcionamento correto do sistema de desintoxicação. A ingestão de mais de 40 mg de AB por refeição pode aumentar significativamente o risco de intoxicação alimentar (Doeun et al., 2017).

2.6.5. Mecanismos de desintoxicação

Em circunstâncias normais, o corpo humano é capaz de desintoxicar rapidamente as AB absorvidas dos alimentos por acetilação e oxidação mediada pelas enzimas monoamina oxidase (MAO), diamina oxidase (DAO) e poliamina oxidase (PAO) (Jairath et al., 2015). No entanto, se esses mecanismos de desintoxicação forem perturbados, seja por causa da alta ingestão de amins ou porque o indivíduo é alérgico ou deficiente em aminooxidases devido ao consumo ou tratamento com enzimas oxidase (por exemplo, inibidor da monoamina oxidase - IMAO), as AB podem acumular-se no corpo e causar graves problemas toxicológicos. O potencial tóxico dessas amins dietéticas é ainda mais alarmante se considerarmos que aproximadamente 20% da população europeia consome regularmente fármacos IMAO como antidepressivos, que inibem a atividade da aminooxidase (Ruiz-Capillas & Jiménez-Colmenero, 2005).

2.6.6. Amins biogénicas nos alimentos

As AB estão presentes numa ampla gama de produtos alimentícios, incluindo peixes e derivados, carnes e derivados, laticínios, vinho, cerveja, vegetais, frutas, nozes e chocolate (Stadnik & Dolatowski, 2010).

Baixas concentrações de AB são uma característica natural de vários alimentos, como frutas e vegetais, onde estão presentes como produtos metabólicos naturais ou intermediários. As AB livres moldam o sabor típico de alimentos maduros e são precursoras de certos compostos aromáticos.

As AB mais importantes que ocorrem em alimentos e bebidas são histamina, β -feniletilamina, tiramina, triptamina, putrescina, cadaverina, espermina e espermidina (Stadnik & Dolatowski, 2010).

2.6.7. Aminas biogénicas em carne e produtos cárneos

A carne e produtos cárneos têm sido relatados repetidamente como contendo AB. As AB mais prevalentes nestes produtos são tiramina, cadaverina, putrescina e também histamina (Laranjo, Gomes, et al., 2017; Ruiz-Capillas & Jiménez-Colmenero, 2005).

A formação de AB pode ocorrer durante o processamento e armazenamento de alimentos como resultado de atividades bacterianas. Consequentemente, quantidades maiores de certas aminas podem ser encontradas nos alimentos como consequência do uso de matérias-primas de baixa qualidade, contaminação microbiana e condições inadequadas durante o processamento e armazenamento dos alimentos.

Há evidências de que, à medida que a qualidade higiénica do produto diminui, o teor de AB aumenta. Vários fatores podem afetar os níveis de AB em diferentes alimentos, nomeadamente o teor de aminoácidos livres disponíveis nas diferentes matrizes alimentares, o nível de higiene das matérias-primas, o controlo higiénico do processo tecnológico (Naila et al., 2010), características do processo tecnológico (como processos de fermentação, temperatura, pH, açúcares disponíveis, etc.), estratégias de embalagem (atmosfera modificada, vácuo, etc.) e temperatura de armazenamento. Quando o crescimento da bactéria ocorre em ambiente ácido, há estimulação da atividade da descarboxilase, estando o pH ótimo para a atividade dessas enzimas entre 2,5 e 6,5. A presença de carboidratos, como a glicose, também favorece o crescimento das bactérias e da atividade descarboxilase (Lund et al., 2014)

A espermidina e a espermina estão naturalmente presentes em concentrações relativamente constantes na carne de porco e bovina fresca, e em produtos cárneos, não sendo a sua formação atribuída à deterioração da carne ou processos de fermentação, enquanto que as outras aminas não são normalmente encontradas ou estão presentes em quantidades muito baixas (Alfaia et al., 2004). Teores elevados de espermina, geralmente entre 20 e 60 mg/kg, são comuns em carnes e derivados de animais de sangue quente. Os níveis de espermidina na carne raramente excedem 10 mg/kg (Stadnik & Dolatowski, 2010).

A descarboxilação da lisina, ornitina e tirosina, os aminoácidos precursores das aminas mais abundantes, cadaverina, putrescina e tiramina, respetivamente, é promovida por enzimas bacterianas de microrganismos alimentares, como enterobactérias e BAL (Suzzi & Gardini,

2003). As enterobactérias diminuem ao longo do amadurecimento, devido à diminuição do pH e a_w , mas as descarboxilases permanecem ativas e contribuem para a acumulação de AB. Embora a formação de cadaverina e putrescina esteja principalmente associada à descarboxilação de lisina e ornitina, respectivamente, por enterobactérias, sabe-se que a atividade de descarboxilase também pode ser encontrada em outras bactérias, como enterococos e estafilococos (Martín et al., 2006). A tiramina surge principalmente como resultado da atividade das BAL, que são os principais microrganismos envolvidos no processo de fermentação (Laranjo, Gomes, et al., 2017).

A tiramina e a histamina são AB com efeitos tóxicos como dores de cabeça, hipertensão e transpiração em níveis de 50 mg por pessoa por refeição. Por outro lado, a putrescina não é tóxica, mas potencializa os efeitos tóxicos de outras AB, como a histamina (Laranjo et al., 2019).

Em Nunez et al. (2016), produtos alimentícios que contêm mais de 500 mg/kg de histamina e 1000 mg/kg (peso fresco) de tiramina são considerados tóxicos ou perigosos para a saúde humana. No entanto, para indivíduos imunocomprometidos, níveis entre 5 e 10 mg/kg de histamina podem ser prejudiciais, 10 mg/kg é considerado como limite tolerável, 100 mg/kg induz uma toxicidade média e 1000 mg/kg é altamente tóxico (Karovičová & Kohajdová, 2005). Por outro lado, para a β -feniletilamina, há evidências de que um teor de 30 mg/kg em produtos alimentícios pode ser tóxico (Gardini et al., 2001).

Especificamente para produtos cárneos, o Instituto Holandês de Pesquisa em Laticínios e a República Checa, propuseram um limite superior recomendado de 100-200 mg/kg para histamina (Nunez et al., 2016).

O nível toxicológico de AB depende das características individuais e da presença de outras aminas e, portanto, é muito difícil de estabelecer. No entanto, foi proposto um teor máximo de AB totais entre 750 e 900 mg/kg (Ladero et al., 2010). Segundo Tasić et al. (2012) os produtos alimentícios são considerados perigosos para consumo a partir de valores de 1000 mg/kg de aminas totais.

2.7. Composição centesimal

2.7.1. Teor de humidade

Os termos "teor de água" e "teor de humidade" têm sido usados indistintamente na literatura para designar a quantidade de água presente nos alimentos e em outras substâncias. A abundância e a reatividade química fazem com que a humidade e a determinação da umidade

sejam uma grande preocupação para muitas indústrias, como alimentos, papel e plásticos, nos quais os níveis aceitáveis de humidade variam entre os materiais e, em alguns casos, quantidades mínimas de humidade podem afetar adversamente a qualidade do produto (Pyper, 1985).

A determinação da humidade é uma das medidas mais importantes e mais amplamente utilizadas no processamento e teste de alimentos. Como a quantidade de matéria seca num alimento está inversamente relacionada à quantidade de humidade que ele contém, o teor de humidade é de importância económica direta para o processador e o consumidor. De importância ainda maior, entretanto, é o efeito da humidade na estabilidade e qualidade dos alimentos. Os grãos que contêm muita água estão sujeitos à rápida deterioração devido ao crescimento de fungos, aquecimento, danos causados por insetos e germinação (Pomeranz & Meloan, 1994).

2.7.2. Teor em cinzas

A «cinza» dos produtos à base de carne pode ser definida como o resíduo inorgânico remanescente após a combustão da amostra na presença de ar à pressão atmosférica. É composto pelos constituintes minerais da amostra na forma de óxidos, sulfatos, silicatos e cloretos, cuja proporção depende da composição inicial da amostra e das condições de incineração (Perez & Andujar, 1981).

2.7.3. Teor em proteína

As proteínas têm um papel importante no crescimento e manutenção do corpo humano e são, junto com os carboidratos e lípidos, os nutrientes que fornecem energia na dieta. Além disso, as proteínas também representam uma ampla gama de outras funções no corpo, como a atividade enzimática e o transporte de nutrientes e outros compostos bioquímicos através das membranas celulares (Wu et al., 2014). Para manter essas funções importantes, é essencial fornecer ao corpo proteínas de boa qualidade através da dieta. A ingestão inadequada de proteínas dietéticas contendo aminoácidos essenciais resulta no aumento da renovação das proteínas musculares, levando à redução do crescimento e perda de massa muscular (Mæhre et al., 2018).

2.7.4. Teor em lípidos

Os lípidos são um grupo diverso de substâncias biológicas constituídas principalmente por compostos apolares (triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos e esteróis) e compostos mais

polares (ácidos gordos livres, fosfolípidos e esfingolípidos). Ligam-se covalentemente a carboidratos e proteínas para formar glicolípidos e lipoproteínas, respetivamente (Manirakiza et al., 2000).

O conhecimento do conteúdo lipídico dos alimentos ou outros tecidos é importante sob dois pontos de vista. Em primeiro lugar, na nutrição, a alimentação equilibrada requer conhecimento sobre o conteúdo de lípidos, proteínas e açúcares dos alimentos. Em segundo lugar, em estudos ambientais ou programas de monitorização, as concentrações de contaminantes orgânicos persistentes (dioxinas, bifenilos policlorados (PCBs), pesticidas organoclorados) são frequentemente expressas num teor de lípidos (Manirakiza et al., 2000).

2.7.5. Teor em carboidratos

Os carboidratos são a principal fonte de energia na dieta humana, constituindo 40-80% da ingestão de energia. A digestibilidade do intestino delgado é, nutricionalmente, a propriedade mais importante dos carboidratos. Os carboidratos digeríveis são absorvidos como monossacarídeos e fornecem glicose aos tecidos. Os carboidratos não digeríveis atingem o cólon e são fermentados em ácidos gordos de cadeia curta. Açúcares digeríveis e amido foram considerados “carboidratos disponíveis” e os restantes carboidratos foram considerados “indisponíveis” e incluem oligossacarídeos não digeríveis e fibra alimentar (Asp, 1994).

Os carboidratos são principalmente derivados de amido e celulose, polidextrose e gomas de origem vegetal e microbiana (carragenina, alginatos, farinha de konjac, xantana, pectina, etc.). Em produtos cárneos, proteínas e carboidratos são usados em combinação com água para produzir géis para compensar os problemas de textura (elasticidade, maciez, suculência, etc.) de produtos com baixo teor em lípidos. As quantidades (em peso seco) de tais substâncias usadas em produtos com baixo teor em lípidos são muito limitadas, pois o verdadeiro substituto dos lípidos é a água adicionada por eles, sendo que, por isso, os carboidratos estão presentes em quantidades muito pequenas (normalmente cerca de 1% ou menos) na carne e na maioria dos produtos cárneos (Chizzolini et al., 1999).

2.7.6. Valor energético

O valor energético de um alimento diz respeito ao calor libertado pela sua oxidação no corpo e, por isso, à energia que o corpo recebe desse alimento, sendo imprescindível para avaliar situações de nutrição normal, desnutrição e obesidade.

As principais fontes alimentares de energia para o corpo humano são lípidos, carboidratos e proteínas. Lípidos e carboidratos contêm carbono e hidrogénio que podem ser oxidados nos seus produtos finais, CO₂ e H₂O. A proteína contém azoto que, com algum carbono e hidrogénio deixa o corpo principalmente na forma de ureia, não sendo oxidada completamente no corpo (Merrill & Watt, 1973).

O valor energético pode ser obtido em laboratório, com recurso a um calorímetro, medindo a diferença de temperatura resultante da queima da amostra. No entanto, este método tende a superestimar o valor energético, uma vez que conta também com valores de componentes não digeríveis, como a fibra alimentar.

Por esse motivo, o sistema de Atwater permite medir o conteúdo energético dos alimentos indiretamente, através da determinação de cada macronutriente (proteínas, carboidratos e lípidos). Este sistema aplica fatores de conversão de energia aos macronutrientes, sendo que os valores médios de energia são expressos como o número de calorias por 1 grama do macronutriente. O sistema de fatores gerais de Atwater inclui valores energéticos de 4 kcal/g para proteínas, 4 kcal/g para carboidratos e 9 kcal/g para lípidos (Kim & Choi, 2015).

2.8. Medição da cor

A cor é uma propriedade ótica fundamental em produtos alimentícios devido ao seu papel como indicador de informações críticas, como salubridade, maturação ou frescura de um produto (Hutchings, 2003). Na visão do consumidor, é uma interação física da luz com a carne registada pelo olho humano e interpretada pelo cérebro. As cores são, portanto, percebidas subjetivamente (Saláková, 2012).

Na carne de bovino, crua e cozida, o pigmento responsável pela cor é a mioglobina. A mioglobina é uma proteína solúvel em água que armazena oxigénio para o metabolismo aeróbio no músculo. Consiste numa porção de proteína e um anel de porfirina não proteica com um átomo de ferro central. O átomo de ferro tem um papel importante na cor da carne (Boles & Pegg, 2010). Na carne fresca, a mioglobina pode ser encontrada em três formas básicas: desoximioglobina (DMb), oximioglobina (MbO₂) e metamioglobina (MMb), correspondendo respetivamente a estados reduzidos, oxigenados e oxidados desse pigmento (**Figura 1**) (Mancini & Hunt, 2005).

Imediatamente após o corte, a cor da carne é bastante escura (vermelho-púrpura). Assim que a superfície da carne entra em contato com o oxigênio, este é absorvido ligando-se ao ferro. A superfície da carne floresce à medida que a mioglobina é oxigenada em oximioglobina, dando à carne a cor vermelha brilhante desejada pelos consumidores. A oximioglobina tem a capacidade de se oxidar, o que promove o escurecimento da carne para uma cor castanha, e leva à formação da metamioglobina. Assim, a mioglobina pode mudar para uma cor vermelha brilhante simplesmente por oxigenação ou para uma cor castanha pela perda de elétrons. Os pigmentos mioglobina, oximioglobina e metamioglobina podem ser alterados de um para o outro, dependendo das condições em que a carne é armazenada (Boles & Pegg, 2010).

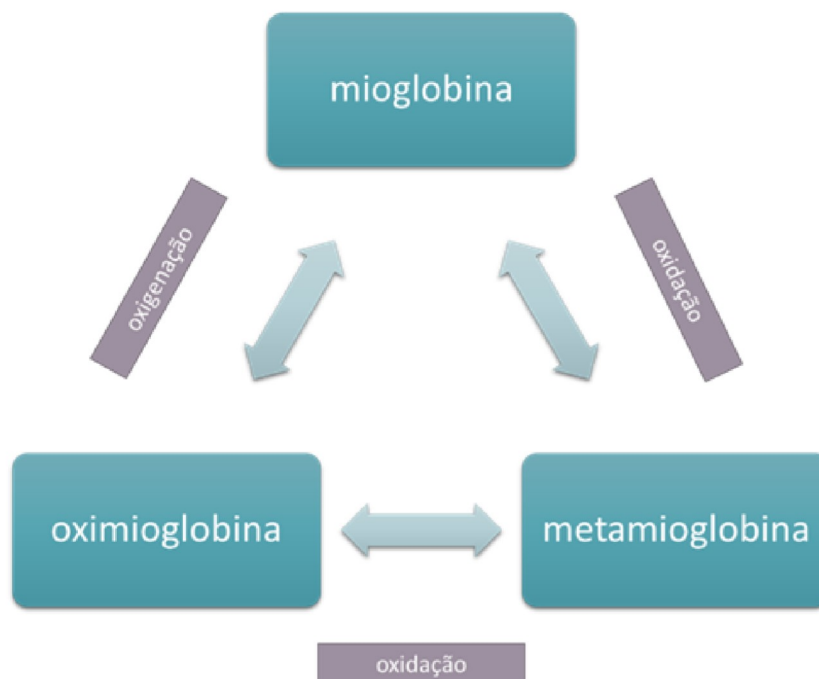


Figura 1: Estados de oxidação-redução da mioglobina.

Independentemente do estado químico da mioglobina (OMb, DMb, MMb), quando a carne é cozida (**Figura 2**), é formado um pigmento de cor bronzeada designado hemicromo (globina desnaturada e ferro heme oxidado). Se a globina estiver totalmente desnaturada, o hemicromo não pode reverter para um pigmento vermelho (Claus, 2007).

O pH final do músculo é uma das condições que afeta o cozimento da carne. O pH final da carne ou dos produtos cárneos afetará como a cor da carne muda durante o processo. Se a carne tiver um pH alto, ela terá que ser cozida em temperaturas finais mais altas para obter o mesmo grau visual de cozimento de uma carne com pH normal. Nestas situações, a carne aparece na cor

crua, de vermelho escuro a púrpura, muito depois de serem atingidas as temperaturas de cozimento adequadas (Boles & Pegg, 2010).

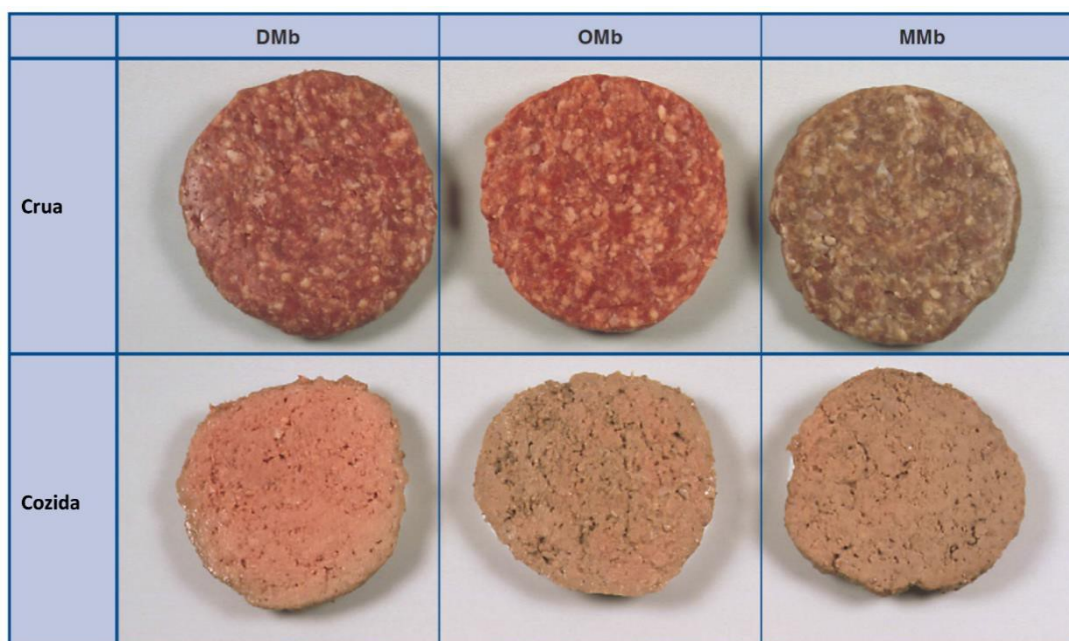


Figura 2: Cor da carne de bovino crua e cozida tendo em conta o estado químico da mioglobina (adaptado de (Claus, 2007)).

Por ter um caráter subjetivo que existe apenas nos olhos e no cérebro do observador, e não uma característica própria do objeto em observação, tornou-se necessário encontrar parâmetros para medir, classificar e reproduzir a cor. Atualmente, a cor dos alimentos é medida em termos de valores CIE L^* , a^* , b^* , ângulo de cor *hue* (h°) e *croma* (C^*). CIELab ou $L^* a^* b^*$, é um padrão internacional para medição de cor, adotado pela *Commission International d'Eclairage* (CIE) em 1976 (Girolami et al., 2013), no qual: L^* é o componente de luminosidade, que varia de 0 a 100 (de preto para branco) e os parâmetros a^* (de verde se negativo para vermelho se positivo) e b^* (de azul se negativo para amarelo se positivo) são dois componentes cromáticos que variam de -120 a +120 (Papadakis et al., 2000; Yam & Papadakis, 2004). A partir destes valores, é possível calcular os valores de *croma* e do ângulo de cor *hue* (equações 1.1 e 1.2). O *croma* define-se como o atributo de cor usado para indicar o grau de afastamento da cor de um cinza de mesma luminosidade, e o ângulo de cor *hue* como o atributo de percepção de cores que descreve as quantidades relativas de vermelho e amarelo, onde $0^\circ/360^\circ$ é definido para vermelho/magenta, 90° para amarelo, 180° para verde e 270° para azul ou roxo, ou cores intermediárias entre pares adjacentes dessas cores básicas (Kortei & Akonor, 2015). Um valor do ângulo de cor *hue* inferior indica um produto mais vermelho. Branco, preto e cinza não possuem ângulo de cor *hue* (Marcus, 2014). Na **Figura 3** está representado o diagrama CIELab com a sequência de cores que correspondem aos respectivos valores do ângulo de cor *hue*.

$$h^{\circ} = \arctg (b^*/a^*) \quad (1.1)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (1.2)$$

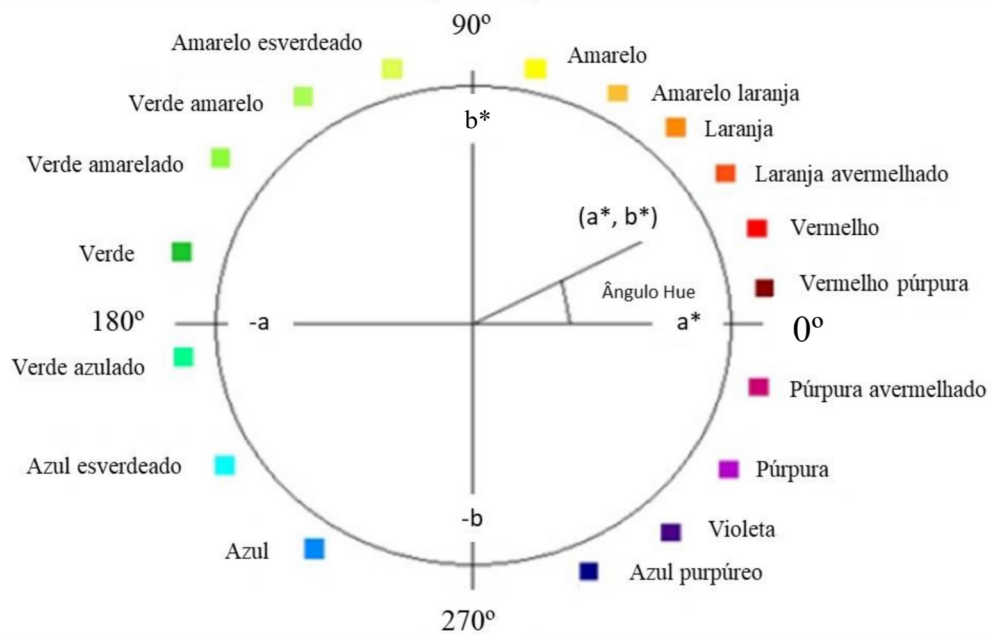


Figura 3: Diagrama CIELab com a sequência de cores e a orientação do ângulo hue (Adriano et al., 2011).

Existem diversos métodos de determinação da cor de alimentos, nomeadamente colorímetros, espectrofotômetros e técnicas de computação visual. Os colorímetros medem a cor das fontes de radiação primária, que emitem luz, e das fontes de radiação secundárias, que são aquelas que refletem ou transmitem a luz externa. Estes são os instrumentos mais utilizados na medição de cores de alimentos e outros produtos, presumivelmente devido à sua facilidade de uso e interpretação dos dados de cores (Pathare et al., 2013).

Existem diversos tipos de colorímetros, sendo que os mais comumente utilizados são os das marcas Konica Minolta e Hunter Lab (Milovanovic et al., 2020).

Na Figura 4 está representado um esquema que ilustra o sistema CIE Lab.

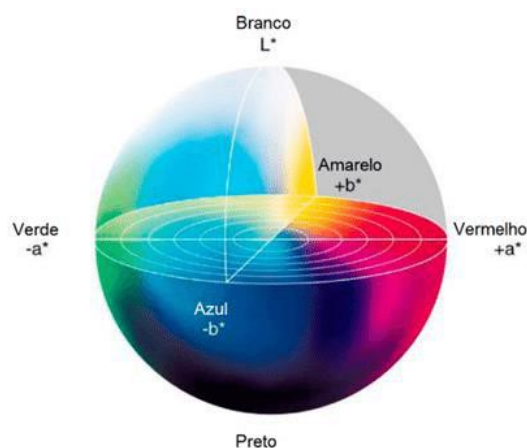


Figura 4: Representação esquemática do sistema CIELab. (Silva et al., 2016).

2.9. Medição da textura

Segundo Szczesniak (1987), "Por definição, a textura é uma propriedade sensorial. Portanto, só o ser humano pode perceber, descrever e quantificar a textura. Além disso, é geralmente reconhecido que a textura, assim como o sabor, é um atributo multiparamétrico."

Brennan (1989) definiu textura como "O atributo de uma substância resultante de uma combinação de propriedades físicas e percebida pelos sentidos do tato (incluindo cinestesia e sensação na boca), visão e audição".

De acordo com a ISO 5492 (1992), a textura é o conjunto de "Todos os atributos mecânicos, geométricos e superficiais de um produto perceptíveis por meio de recetores mecânicos, táteis e, quando apropriado, visuais e auditivos.

Bourne (1990), fala em propriedades texturais em vez de textura, porque existem várias propriedades texturais diferentes, e afirma que a textura não é um atributo unidimensional; é um atributo multidimensional, sendo que as propriedades texturais dos alimentos têm as seguintes características:

1. São um grupo de propriedades físicas.
2. Derivam da estrutura da comida.
3. São explicadas pelo comportamento reológico.
4. São sentidas pela sensação do toque.
5. A medição objetiva é geralmente por meio de funções de massa, distância e tempo.

Blair (1958) categorizou as técnicas instrumentais usadas para medir a textura dos alimentos em três grupos.

- Testes empíricos: que, por definição, são desenvolvidos por experimentação e observação e, como tal, podem carecer de uma base científica rigorosa.
- Testes fundamentais: que medem propriedades físicas inatas dos materiais, como viscosidade ou módulo de elasticidade. São testes cientificamente rigorosos e os dados são expressos em unidades científicas bem definidas.
- Testes imitativos: que tentam simular as condições a que o material é submetido na boca, isto é, tentam simular a mastigação com uma máquina instrumentada de forma a fornecer medições de tensões e/ou deformações durante a sequência de testes. O teste imitativo mais conhecido é a Análise do Perfil de Textura ou *Texture Profile Analysis* (TPA), que fornece valores padronizados de textura de alimentos. Szczesniak, (1963) definiu uma variedade de termos texturais que estão relacionados com o método TPA:

Dureza - Força necessária para comprimir um alimento entre os molares.

Elasticidade - A extensão na qual um alimento comprimido retorna ao seu tamanho original quando a carga é removida.

Adesividade - Trabalho necessário para puxar o alimento para longe de uma superfície.

Coesividade - A força das ligações internas que constituem o alimento.

Fragilidade - A força na qual o material se quebra.

Mastigabilidade - A energia necessária para mastigar um alimento sólido até que esteja pronto para engolir. É obtida pela expressão: $Mastigabilidade = Dureza \times Coesividade \times Elasticidade$

Gomosidade - Energia necessária para desintegrar um alimento semissólido de modo que esteja pronto para ser engolido. É obtida pela expressão: $Gomosidade = Dureza \times Coesividade$

2.10. Análise Sensorial

A análise sensorial envolve a detecção e a descrição dos componentes sensoriais qualitativos e quantitativos de um produto de consumo por painéis de avaliadores (Meilgaard et al., 1999). A avaliação sensorial pode ser realizada por vários tipos de avaliadores: avaliadores sensoriais, avaliadores selecionados e avaliadores sensoriais especialistas. Avaliadores sensoriais são

quaisquer pessoas que participam num teste sensorial, e que não precisam de atender a nenhum critério preciso, ou avaliadores iniciados que já participaram em testes sensoriais (ISO 5492, 2008). Avaliadores selecionados são escolhidos pela sua capacidade de realizar um teste sensorial. Avaliadores sensoriais especialistas são avaliadores selecionados com uma sensibilidade sensorial comprovada e com considerável treinamento e experiência em testes sensoriais, capazes de fazer avaliações sensoriais consistentes e repetíveis de vários produtos (Sipos et al., 2021).

A análise sensorial usa princípios científicos extraídos da ciência alimentar, fisiologia, psicologia e estatística (Sharif et al., 2017). O objetivo é conseguir respostas objetivas às propriedades dos alimentos, conforme percebidas pelos sentidos da visão, olfato, paladar, tato e audição. As técnicas sensoriais devem atender aos requisitos de todos os métodos de medição, no sentido de que devem ser acuradas, precisas e válidas, mas também devem estar relacionadas com as percepções e preferências do consumidor.

Os atributos sensoriais de um produto incluem todas as propriedades de aroma, aparência, sabor, textura e sabor residual de um produto, que o distinguem de outros.

3. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo geral a caracterização e a avaliação da qualidade e da segurança de dois novos produtos cárneos à base de carne de bovino da raça Cachena. Para a concretização destes objetivos, fez-se um ensaio em contexto industrial em que se produziram vários lotes dos novos produtos e se determinaram diferentes parâmetros de qualidade e segurança.

A determinação da composição centesimal do produto, que tem como objetivo caracterizar os produtos cárneos e avaliar o seu valor nutricional, avaliando assim a qualidade do mesmo.

A avaliação da segurança microbiológica, que tem como objetivo avaliar a segurança e higiene dos produtos, investigando a presença de microrganismos potencialmente patogénicos nas amostras (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Clostridium*), de microrganismos indicadores de higiene, como as enterobactérias e os microrganismos aeróbios totais, e da microbiota tecnológica, como as bactérias do ácido láctico, os estafilococos ou as leveduras.

A avaliação da segurança físico-química, através da determinação dos valores de pH e de a_w , e do perfil de AB, cujo objetivo principal é garantir a segurança do produto, uma vez que estas, em quantidade suficiente, podem causar efeitos secundários prejudiciais ao consumidor.

A avaliação da qualidade, por meio de análise sensorial, por parte de provadores, de diversos parâmetros sensoriais da carne, como: a intensidade da cor das amostras, cores desfavoráveis, intensidade do aroma, aromas indesejáveis, dureza, suculência, intensidade do sabor, percepção do sal e aceitação geral.

A ideia de criar novos produtos cárneos com carne de bovino da raça Cachena, surge com o objetivo de aproveitar algumas carnes duras desta raça que, por esse motivo, são rejeitadas pelo consumidor quando para venda em carne fresca.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Desenho experimental

Foram analisados dois novos produtos cárneos distintos, baseados na tradicional cabeça de xara.

A composição dos produtos é a seguinte:

- Cabeça de xara com carne de bovino da raça Cachena;
- Cabeça de xara com carne de bovino da raça Cachena + carne de porco.

As amostras analisadas correspondem a três lotes distintos. No presente estudo foram analisadas, no total, 48 amostras, sendo que, por cada lote, foram analisadas 16 amostras, 8 correspondentes ao produto acabado (T0), e 8 correspondentes ao final do período de validade estimado (60 dias). As amostras foram armazenadas em vácuo, a uma temperatura de refrigeração de 4 °C.

A **Tabela 2** apresenta o desenho experimental do estudo.

Tabela 2: Desenho experimental.

Nº AMOSTRA	LOTE	TIPO DE PRODUTO	TEMPO DE AMOSTRAGEM
155-156 219-220		CX de Cachena	
161-162 225-226	1	CX de Cachena + porco	
157-158 221-222		CX de Cachena	
163-164 227-228	2	CX de Cachena + porco	T0
159-160 223-224		CX de Cachena	
165-166 229-230	3	CX de Cachena + porco	
237-238 301-302		CX de Cachena	
243-244 307-308	1	CX de Cachena + porco	
239-240 303-304		CX de Cachena	
245-246 309-310	2	CX de Cachena + porco	T60
241-242 305-306		CX de Cachena	
247-248 311-312	3	CX de Cachena + porco	

4.2. Materiais

Os produtos foram confeccionados utilizando carne de bovino da raça Cachena ou carne de bovino da raça Cachena e cabeça de porco, numa proporção de 50:50.

Na **Tabela 3** apresentam-se os ingredientes utilizados nas diferentes fases de produção da cabeça de xara.

Tabela 3: Ingredientes utilizados na produção da cabeça de xara.

FASE DE PRODUÇÃO	INGREDIENTES
Processo de nitrificação	Sal refinado Açúcar Sal nitrificante
Cozedura	Água Vinho branco Sal Salsa Fresca Pimenta Preta (grão) Pimenta Preta (moída) Pimenta Branca Cravinho moído
Embalamento	Vinagre

Detalhadamente, a produção consistiu na limpeza das carnes e na lavagem das cabeças de porco, e cobertura das mesmas com uma mistura de sal, açúcar e sal nitrificante (processo de nitrificação). Estas foram deixadas em repouso, para fins de tempero durante 5 dias, a uma temperatura de 2 °C. Posteriormente, as cabeças foram cozidas a 105 °C durante 10 min, em água previamente temperada com vinho branco, sal, salsa, pimenta preta e branca, e cravinho. As cabeças foram então desossadas e cortadas e novamente aquecidas a 80 °C na água de cozedura, durante 10 min, para serem colocadas em moldes semicilíndricos e mantidas entre 0-5 °C, durante 48h. Antes do embalamento, o produto foi fatiado e submerso em vinagre, à temperatura ambiente, durante 5 min. Depois do embalamento, as amostras foram armazenadas entre 0-5 °C, durante 2 meses.

4.3. Composição centesimal

Todos as análises relacionadas com a determinação da composição centesimal foram realizadas em duplicado.

4.3.1. Pré-secagem/liofilização

A liofilização é um processo no qual a água é congelada, sendo retirada da amostra, inicialmente por sublimação (secagem primária) e depois por dessorção (secagem secundária) (Nireesha et al., 2013).

As amostras foram submetidas a uma pré-secagem antes de se iniciarem as determinações, de modo a facilitar o processo.

As amostras foram colocadas num liofilizador durante aproximadamente 3 dias. Posteriormente, foram picadas com recurso a uma picadora 1-2-3 (**Figura 5**).



Figura 5: Amostra após liofilização.

Deste processo, obteve-se o teor de matéria seca inicial (MSI), calculado pela expressão:

$$\text{Teor de MSI} = \frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1)} \times 100$$

Sendo que:

m₁ – massa do cadinho (g)

m₂ – massa do cadinho + amostra (g)

m₃ – massa do cadinho + amostra (g), após secagem

4.3.2. Teor de humidade

A determinação do teor de humidade das amostras foi realizada por diferença de peso.

Para a determinação do teor de humidade, os cadinhos de porcelana utilizados foram previamente pesados. De seguida, pesaram-se 2 g de amostra liofilizada e procedeu-se à secagem em estufa a 100 °C (Memmert - Schwabach, Alemanha), durante 24h (**Figura 6**). Após esse tempo, foram colocados no exsiccador para arrefecer e foram pesados.



Figura 6: Amostras após secagem em estufa a 100°C.

A partir deste procedimento, foi obtido o teor de matéria seca residual (MSR), através da seguinte expressão:

$$\text{Teor de MSR} = \frac{(m_3 - m_1)}{m_2} \times 100$$

Sendo que:

m₁ – massa do cadinho (g)

m₂ – massa da amostra (g)

m₃ – massa do cadinho + amostra (g), após secagem

O teor de matéria seca corrigida (MSC), isto é, o valor final de matéria seca, foi obtido pela expressão:

$$\text{Teor de MSC} = \frac{\text{MSR}}{100} \times \frac{\text{MSI}}{100} \times 100$$

O teor de humidade (TH) foi obtido subtraindo a 100 o valor obtido de matéria seca corrigida, isto é:

$$\text{TH} = 100 - \text{MSC}$$

4.3.3. Teor em cinzas

A determinação do teor em cinzas (TC) foi realizada através das amostras que se obtiveram da determinação do teor de matéria seca. As amostras foram previamente carbonizadas (**Figura 6 e 7**), para serem submetidas a uma temperatura de 550 °C (± 25 °C) numa mufla (Carbolite Furnaces- Sheffield, Reino Unido), modelo CSF 1200, até incineração (**Figura 8**). Posteriormente, foram colocadas a arrefecer em exsicador, para poderem ser pesadas.

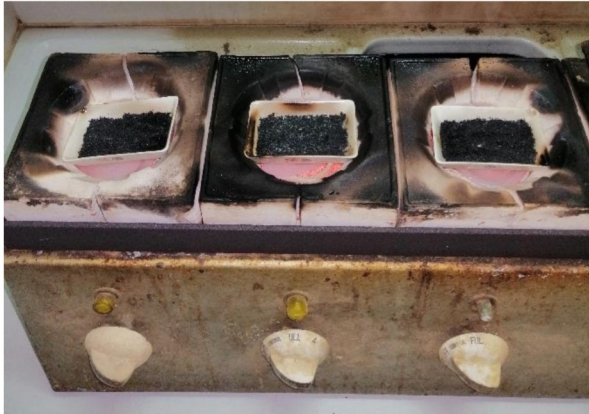


Figura 7: Carbonização das amostras.



Figura 8: Amostras na mufla, após carbonização.



Figura 9: Amostras após saírem da mufla.

O teor de CT foi obtido através da expressão:

$$\frac{(m3 - m1)}{m2} \times 100$$

Sendo que:

m1 – massa do cadinho (g)

m2 – massa da amostra (g)

m3 - massa do cadinho + amostra (g), após incineração

O valor obtido pela expressão acima foi, por sua vez, convertido em g/100g de matéria seca (MS), tendo sido dividido pela MSR, através da expressão:

$$\frac{CT}{MSR} \times 100$$

A conversão deste último valor para g/100g de matéria verde (MV), isto é, o produto como é consumido, foi realizada com recurso à expressão:

$$\text{Teor de CT (g/100g MS)} \times \frac{MSC}{100}$$

4.3.4. Teor em lípidos

A determinação do teor em lípidos foi realizada com recurso ao método de Soxhlet.

Primeiramente, foram pesados os copos de extração juntamente com as pedras reguladoras de ebulição (Gerhardt- Königswinter, Alemanha). Posteriormente, foram pesados 3 g de amostra para cartuchos de extração (VWR - Leuven, Bélgica). O processo foi conseguido com recurso a um extrator de Soxhlet (**Figura 10**) totalmente automático (Gerhardt- Königswinter, Alemanha), e a extração foi feita com 150 mL de éter de petróleo. Após terminar o processo (**Figura 11**), os copos foram colocados na estufa a 100 °C para serem, após arrefecimento, pesados.



Figura 10: Amostras no extrator de Soxhlet.



Figura 11: Amostras após saírem do extrator.

O teor em lípidos (TL) foi obtido pela expressão seguinte:

$$\frac{m3 - m1}{m2} \times 100$$

Sendo que:

m1 – massa do copo+ pedras de ebulição (g)

m2 – massa da amostra (g)

m3 – massa do copo+ pedras de ebulição + lípidos (g)

A conversão do valor obtido para g/100g MS foi obtido pela expressão:

$$\frac{TL}{MSC} \times 100$$

A conversão para g/100g MV foi conseguida através da expressão:

$$TL (g/100g MS) \times \frac{MSC}{100}$$

4.3.5. Proteína

A determinação da proteína bruta foi efetuada pelo método de Dumas descrito por Saint-Denis & Goupy (2004), usando o equipamento LECO *protein/nitrogen analyser* FP-528 (Leco - Lima, Perú). Foram pesados 0,2 g de amostra para um copo de folha de estanho (Figura 12) (Leco-Lima, Perú), que foi posteriormente introduzido no equipamento (Figura 13). A determinação foi conseguida por combustão da amostra pelo aparelho. O equipamento fornece automaticamente, a cada amostra, o valor de azoto total (AT).



Figura 12: Copo de folha de estanho com 0,2g de amostra.



Figura 13: Equipamento LECO *protein/nitrogen analyser* FP-528.

Para obter o valor de proteína bruta (PB), foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Proteína bruta} = \text{AT} \times \text{fator de conversão (6,25)}$$

A partir deste valor, o valor de proteína em g/100g MS foi obtido pela expressão:

$$\frac{PB}{MSC} \times 100$$

O valor de proteína em g/100g MV calculou-se através da expressão:

$$PB \text{ (g/100g MS)} \times \frac{MSC}{100}$$

4.3.6. Carboidratos

O teor de carboidratos foi calculado por subtração dos valores das restantes variáveis, através da expressão:

$$\text{Teor de carboidratos: } 100 - (\text{TH} + \text{TC} + \text{TG} + \text{PB})$$

4.3.7. Valor energético

O valor energético foi calculado através dos fatores de conversão de Atwater para as proteínas, lípidos e carboidratos, respetivamente, 4, 9 e 4 kcal/g. Estes são considerados os valores de referência da UE para determinar os valores de energia, conforme recomendado no Regulamento da Comissão 1169/2011 (EC, 2011).

4.4. Parâmetros físico-químicos

A determinação do pH foi realizada de acordo com o descrito na ISO 2917 (1999). Para as leituras de pH, utilizou-se um potenciómetro digital da marca Crison, modelo Basic 20 (Barcelona, Espanha) e um eléctrodo da mesma marca, modelo 25-21.

A determinação da a_w foi realizada a 20 °C, através de um equipamento específico Rotronic Hygroskop DT (Zurique, Suíça), com sonda WA-40 (Zurique, Suíça).

4.5. Parâmetros microbiológicos

Segundo o Regulamento (CE) nº 1441/2007 da Comissão de 5 de dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) nº 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, as análises microbiológicas necessárias para este tipo de produto cárneo incluem a pesquisa de *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*, enquanto parâmetros de segurança. No entanto, foram pesquisados outros tipos de microrganismos, que estão relacionados com a

higiene e qualidade do produto. Na **Tabela 4**, apresentam-se todos os grupos microbianos avaliados, juntamente com o meio em que foram incubados e a temperatura e tempo de incubação, assim como as respectivas normas internacionais para cada metodologia.

Tabela 4: Resumo das metodologias utilizadas nas análises microbiológicas.

MICROORGANISMOS	MEIO DE CULTURA	TEMPERATURA E PERÍODO DE INCUBAÇÃO	NORMA DE REFERÊNCIA
Mesófilos	TGE	30 °C, 48h	(ISO 4833-1, 2013)
Psicrotróficos	TGE	10 °C, 7 dias	(ISO 17410, 2001)
BAL	MRS	30 °C, 48h	(ISO 15214, 1998)
Estafilococos	MSA	37 °C, 48h	(ISO 6888-2, 1999)
Enterobactérias	VRBG	30 °C, 48h	(ISO 21528-2, 2017)
Fungos: leveduras e bolores	RB	25 °C, 5 dias	(ISO 21527-1, 2008)
<i>Listeria monocytogenes</i>	ALOA	37 °C, 24h	(ISO 11290-2, 2014)
<i>Clostridium perfringens</i>	SPS	35 °C, 48h	(ISO 7937, 2004)

As análises microbiológicas seguintes foram realizadas de acordo com as normas internacionais, tal como já descrito (Laranjo et al., 2015). Para contagens microbianas, 10 g de cada amostra foram homogeneizados, em sacos próprios (Interscience - Mourjou, França), durante 90s num Stomacher Masticator (IUL Instruments, Espanha) com 90 mL de água peptonada (VWR, Leuven, Bélgica). Foram realizadas diluições seriadas até à diluição 10^{-5} , inoculadas em placas de Petri, e incubadas do seguinte modo:

- Microrganismos mesófilos em Agar Extrato de Triptona Glicose (TGE) (VWR, Leuven, Bélgica) a 30 °C durante 48h;
- Microrganismos psicrotróficos em Agar TGE (VWR, Leuven, Bélgica), a 10 °C durante 7 dias;
- Bactérias do ácido láctico (BAL) em *Agar Man, Rogosa e Sharpe* (MRS) (VWR, Leuven, Bélgica) a 30 °C durante 48h em condições de anaerobiose, utilizando para o efeito uma jarra de anaerobiose e um indicador de anaerobiose;
- Enterobactérias em *Violet Red Bile Glucose Agar* (VRBG) (VWR, Leuven, Bélgica) a 30 °C durante 48h;
- Estafilococos em *Manitol Salt Agar* (MSA) (VWR, Leuven, Bélgica) a 37 °C durante 48h;
- Leveduras e bolores em *Rose Bengal Chloramphenicol Agar* (RB) (VWR, Leuven, Bélgica) a 25 °C durante 5 dias.

Para todas as contagens microbianas, os resultados foram expressos em log ufc/g.

Os microrganismos psicrotróficos anaeróbios foram contados em Agar Extrato de Triptona Glicose (TGE) (VWR, Leuven, Bélgica) mantido sob condições anaeróbias, numa jarra de anaerobiose (Merck - Nova Jersey, EUA) utilizando Anaerocult® A (Merck - Nova Jersey, EUA) e incubado a 10 °C por 7 dias.

Para a deteção de *Clostridium perfringens*, ferveu-se a amostra a 80 °C, durante 10 min. Após esse tempo, incubou-se 1 mL da amostra em Agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) (VWR, Leuven, Bélgica), a 35 °C, por 48h.

Para a deteção de *Listeria monocytogenes*, inoculou-se, pela técnica de espalhamento à superfície, 0,1 mL da amostra em Agar base seletivo para *Listeria* de acordo com Ottaviani & Agosti (ALOA) (VWR, Leuven, Bélgica), e incubaram-se as placas a 37 °C, durante 24h.

Para a deteção de *Salmonella*, foi realizado um imunoensaio enzimático, o VIDAS® SPT, para a deteção de recetores de *Salmonella* usando o método ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*). Para isso, 25 g de cada amostra foram homogeneizados, em sacos próprios (Interscience - Mourjou, França) num *Stomacher® masticator* (IUL Instruments, Espanha) com 225 mL de água peptonada (VWR, Leuven, Bélgica) e incubados a 42,5 °C durante 18 a 24h. De seguida, foram pipetados 0,5 mL do conteúdo para a barrete VIDAS, conhecida como VIDAS SPR® (*Solid Phase Receptacle*), a qual foi colocada 5 minutos no Vidas Heat & Go Dri-Block® DB-3D (Techne - Staffordshire, Reino Unido). Depois de repousarem 10 minutos à temperatura ambiente, foram colocadas no mini Vidas®. Simultaneamente, colocámos no equipamento os cones (SPR-Recipientes de fase sólida) correspondentes ao número de barretes. Os resultados foram obtidos em aproximadamente 48 minutos e o procedimento imunoenzimático foi levado a cabo pelo mini Vidas®. As barretes de *Salmonella* (SLM), os cones SPR e o equipamento miniVIDAS® foram fornecidos pela bioMérieux (Marcy-l'Étoile, França).

4.6. Determinação de aminas biogénicas

Para determinar o perfil de aminas biogénicas é necessário realizar um procedimento dividido em várias etapas, sendo iniciado por um processo de extração e derivatização, seguido posteriormente da sua quantificação, com recurso a HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Durante o processo de extração as amostras são filtradas de modo a extrair as AB nelas presentes, seguindo-se a derivatização. O maior desafio na identificação e

quantificação do perfil de AB é a falta de técnicas analíticas sensíveis. Assim, esta segunda etapa tem como objetivo garantir a sensibilidade adequada, antes da amostra ser injetada em HPLC uma vez que a derivatização com cloreto de dansilo tem a vantagem de permitir a detecção de UV (254 nm) e tempo de eluição rápido (Innocente et al., 2007).

O perfil de AB foi determinado de acordo com os procedimentos experimentais descritos por Roseiro et al. (2006). Para a extração, 8 g das amostras foram homogeneizadas em 40 mL de ácido perclórico 0,4 M, com um homogeneizador T 25 digital ULTRA-TURRAX (Staufen, Alemanha). As amostras foram centrifugadas numa centrifuga da marca Hettich zentrifugen (Tuttlingen, Alemanha), modelo rotina 420r, durante 10 min a 5000 rpm e o sobrenadante filtrado para um balão volumétrico de 100 mL, através de papel de filtro (Whatman 41). A extração foi repetida com 40 mL de ácido perclórico 0,4 M e os sobrenadantes foram combinados. Ao total dos sobrenadantes, foram adicionados 0,5 mL de padrão interno (1,7-diaminoheptano) e o volume foi ajustado até 100 mL com ácido perclórico 0,4 M.

Para a derivatização, um volume de 1 mL do extrato da amostra foi alcalinizado com 200 µL de solução de hidróxido de sódio 2N, e tamponado com 300 µL de bicarbonato de sódio saturado. Foi adicionado o cloreto de dansilo (na proporção 5 mg/1 mL acetona), preparado no dia da análise e protegido da luz, e as amostras incubadas durante 45 min a 40 °C. O cloreto de dansilo foi removido pela adição de 100 µL de amónia. Após 30 min, as amostras foram finalmente dissolvidas em acetonitrilo e centrifugadas a 2500 rpm durante 5 min, para serem filtradas através de uma membrana Acrodisc 25 mm GHP, GF 0,45 µm (Gelman Sciences, Inc.). Todas as amostras foram derivatizadas em duplicado.

As AB em análise (triptamina, β-feniletilamina, putrescina, cadaverina, histamina, tiramina, espermidina e espermina) foram separadas e quantificadas num sistema HPLC Alliance Separation Module 2695 (Waters, Milford, MA) provido de um detetor Dual λ UV/Vis Detector 2487 (Waters, Milford, MA), ajustado para um comprimento de onda de 254 nm e uma coluna RP18 Spherisorb 5 µm ODS2 de 4,0 x 125 mm (Waters, Alemanha). A separação foi realizada com uma mistura de acetato de amónio (Panreac, Espanha) a 0,1 M e acetonitrilo (Panreac, Espanha). O gradiente iniciou com 50% e terminou com 90% de acetonitrilo decorridos 23 minutos, com um fluxo de 1 mL/min à temperatura de 25 °C. O volume de injeção foi de 20 µL.

A identificação das AB foi feita com base no seu tempo de retenção.

A recolha e o tratamento dos dados cromatográficos foram efetuados através do software Chromeleon versão 6.8 (Thermo Scientific Dionex - Massachusetts, USA).

A quantificação das AB foi efetuada por calibração externa, com recurso a uma mistura de padrões individuais de concentração conhecida (contendo as 8 aminas em análise), na presença de padrão interno. As concentrações foram calculadas a partir das curvas de calibração obtidas através da razão entre as áreas dos picos cromatográficos das aminas padrão com diferentes concentrações (0-100 µg/mL).

O conteúdo de AB foi expresso em mg/kg de matéria fresca de amostra.

Cada amostra sofreu 2 extrações que, posteriormente, foram derivatizadas 2 vezes, perfazendo o total de 4 derivatizações por amostra. Cada uma das 4 amostras derivatizadas foi injetada em duplicado no HPLC, perfazendo um total de 8 injeções em HPLC por amostra.

O esquema seguinte (**Figura 14**) exemplifica o referido anteriormente, para a amostra 155.

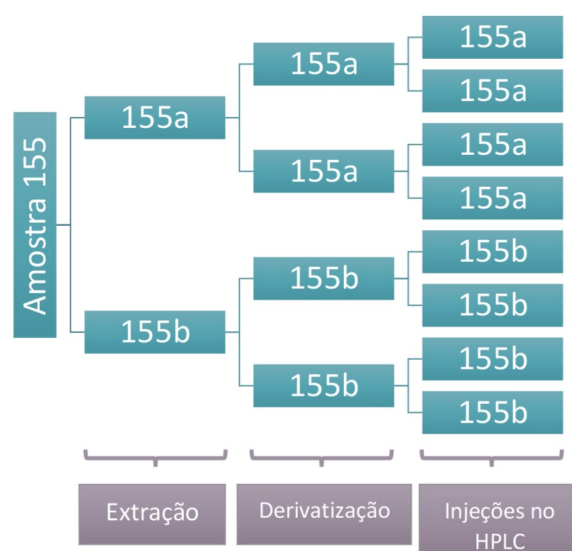


Figura 14: Exemplo do processo de determinação de aminas biogénicas para a amostra 155.

Os valores de aminas totais foram obtidos pela soma de todas as AB determinadas.

Os valores de aminas vasoativas foram obtidos pela soma das aminas vasoativas (triptamina, β -feniletilamina, histamina e tiramina).

4.7. Determinação da cor

Para a determinação da cor, foram cortadas, para cada amostra, duas fatias com 1 centímetro de espessura. Para cada fatia, foram realizadas 4 medições, para as quais foi utilizada um colorímetro de refletância (Konica Minolta), modelo CR-400 (Osaka, Japão). Este foi, por sua vez,

controlado pelo programa Color Data Software CM-S100w Spetra Magic™ NX versão 2.40.0004 (Konica Minolta - Osaka, Japão), com o Iluminante D65.

Foram medidas as coordenadas cromáticas L^* a^* b^* , a partir das quais foi possível calcular o ângulo de cor Hue (h°), e o Croma (C^*), pelo sistema CIELab.

4.8. Determinação da textura

Para a avaliação da textura, realizou-se um teste destrutivo de penetração, com recurso a um texturómetro TA.HD.Plus (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) com uma sonda de penetração múltipla (A/MPP) (**Figura 2**). À semelhança da determinação da cor, foram também utilizadas, para cada amostra, duas fatias com 1 centímetro de espessura.



Figura 15: Sonda de penetração múltipla utilizada no ensaio. Fonte: <https://robinaanugerah.com/stable-micro-systems-product/texture-analyzer/>.

Durante a realização dos testes, os dados foram representados graficamente pelo software de aquisição e recolha de dados, Texture Exponent 32 versão 5.1.1.0. Os texturogramas, gráficos que representam uma curva força (N) em função da distância (mm), permitiram avaliar três parâmetros para cada amostra: força, gradiente e área. A força diz respeito à força máxima (N) exercida para perfurar a amostra, a uma determinada deformação ou distância (mm) que depende da elasticidade e resistência da amostra. O gradiente diz respeito à elasticidade da amostra, e a área representa a força da resistência exercida pela amostra à penetração da sonda, que é normalmente constante.

Para a obtenção dos valores de força e distância relativos a cada parâmetro avaliado, criou-se uma macro (conjunto de comandos associados ao software que permite o cálculo de diferentes parâmetros identificados no texturograma), com instruções para:

- (i) Calcular o valor de força máxima exercida para perfurar a amostra;

- (ii) Determinar qual a área (N mm) do gráfico até ao pico máximo de força;
- (iii) Calcular o gradiente (N/mm).

Por cada amostra foram realizadas 6 leituras.

4.9. Análise sensorial

Os parâmetros de análise sensorial foram avaliados por um painel de provadores treinados da Universidade de Évora, selecionado de acordo com a ISO 8586-1 (1993).

As provas decorreram numa sala de análise sensorial preparada de acordo com as indicações constantes da ISO 8589 (2012).

A ficha de análise sensorial, que se encontra no anexo 1, baseia-se numa análise descritiva quantitativa (ADQ), na qual os parâmetros avaliados foram os seguintes: Aspeto; Cores Estranhas; Marmoreado; Intensidade Cheiro; Cheiros Estranhos; Dureza; Fibrosidade; Suculência; Intensidade Sabor; Sabores negativos; Intensidade salga; Avaliação Global (AG). Para cada parâmetro, os provadores avaliaram as amostras de acordo com uma escala de 0 a 100, sendo que 0 é considerada uma perceção mínima e 100 uma perceção máxima. Relativamente aos parâmetros intensidade de salga e dureza, 50% é considerado o valor ótimo, pelo que valores mais baixos indicam uma baixa perceção de sal, enquanto valores mais altos correspondem a altos teores de sal.

4.10. Análise Estatística

A análise estatística foi efetuada no programa Statistica™ V.12.0 da Statsoft (StatSoft Inc., 1984 - 2014, Tulsa, EUA).

A identificação de *outliers* foi efetuada com recurso ao teste de Grubbs ($p < 0,05$). O teste de Kolmogorov-Smirnov (K-S) foi utilizado para verificar a distribuição normal, ou não, das variáveis em estudo. A homogeneidade de variâncias foi analisada com recurso a um teste de Levene.

Para todas as análises foram, primeiramente, efetuadas análises de variância considerando apenas o fator lote, de maneira a entender se este era ou não significativo para as variáveis em estudo.

Posteriormente, determinaram-se as médias e desvios-padrão para cada uma das variáveis estudadas, para as análises físico-químicas, microbiológicas, AB, composição centesimal, textura e cor e análise sensorial. Efetuou-se uma análise de variâncias (ANOVA) multifatorial para um nível de significância de 0,05 e, quando esta se mostrou significativa, recorreu-se a um Teste Post Hoc *Honest Significant Difference* (HSD) Tukey para comparação múltipla de médias ($p < 0,05$).

5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

No presente estudo, foi avaliada a qualidade e segurança de dois novos produtos prontos a consumir, com base na tradicional cabeça de xara. As amostras analisadas foram Cabeça de xara com carne de bovino da raça Cachena e Cabeça de xara com carne de bovino da raça Cachena + carne de porco. Por se tratar de produtos novos, estes foram avaliados em termos nutricionais, através da sua composição centesimal. A qualidade e segurança dos produtos foi analisada com recurso à determinação dos valores de pH e a_w , determinações essas que influenciam o perfil microbiológico dos produtos, isto é, potencial deterioração e crescimento de microrganismos patogénicos durante o armazenamento, assim como o perfil de amins biogénicas. Todos estes parâmetros foram uma mais-valia para a avaliação sensorial dos dois produtos. Em todas as análises efetuadas, o teste de Grubbs revelou a ausência de *outliers*, assim como o teste de Kolmogorov-Smirnov revelou distribuição normal para todas as variáveis em estudo. O teste de Levene comprovou a homogeneidade de variâncias, estando assim cumpridos todos os pressupostos necessários para efetuar uma ANOVA.

Tendo em conta que não houve diferenças significativas entre lotes, consideraram-se apenas dois fatores: tipo de produto (TP) e tempo de amostragem (TA), utilizados para efetuar uma ANOVA multifatorial com dois fatores (ANOVA *two-way*) em todas as análises realizadas. O tempo de amostragem foi de 60 dias, durante os quais as amostras se mantiveram armazenadas a 4 °C.

5.1. Composição centesimal

Na **Tabela 5** apresenta-se a análise de variância para os resultados da composição centesimal, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

Tabela 5: Análise de variância para a composição centesimal, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

PARÂMETROS	FATORES					
	TP		TA		TP x TA	
	F	p	F	p	F	p
Humidade	451,6543	0,0000***	0,0267	0,8707(N.S.)	0,9519	0,3318(N.S.)
Cinzas	14,5839	0,0002***	0,1210	0,7287(N.S.)	0,1683	0,6826(N.S.)
Lípidos	856,3179	0,0000***	0,4247	0,5162(N.S.)	2,5513	0,1136(N.S.)
Proteína	36,1924	0,0000***	3,2195	0,0760(N.S.)	7,8356	0,0062**
Carboidratos	2,0041	0,1603(N.S.)	32,7330	0,0000***	0,0325	0,8574(N.S.)
Energia	880,3909	0,0000***	0,3803	0,5390(N.S.)	0,0010	0,9750(N.S.)

N.S.: não significativo; * significativo para $p < 0,05$; ** significativo para $p < 0,01$; *** significativo para $p < 0,001$.

A leitura da **Tabela 5** indica que o fator tipo de produto foi altamente significativo ($p < 0,001$) para todas as variáveis, à exceção dos carboidratos, para os quais se mostrou não significativo ($p \geq 0,05$). O fator tempo de amostragem foi não significativo ($p \geq 0,05$) para todas as variáveis, à exceção dos carboidratos, para a qual foi altamente significativo ($p < 0,001$). A interação entre ambos foi não significativa ($p \geq 0,05$) para todas as variáveis, à exceção da proteína, para a qual foi muito significativa ($p < 0,01$).

Na **Tabela 6** apresentam-se os valores médios e os desvios padrão para a composição centesimal.

Tabela 6: Resultados de ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise da composição centesimal, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.

TP	CX		CX + PORCO	
	0	60	0	60
Humidade	72,22±1,61 ^a	71,89±1,92 ^a	65,60±0,58 ^b	65,84±1,38 ^b
Cinzas	2,49±0,57 ^a	2,42±0,49 ^{a,b}	2,06±0,46 ^b	2,06±0,50 ^b
Lípidos	2,98±0,90 ^a	2,81±0,91 ^a	7,97±0,95 ^b	8,38±0,76 ^b
Proteína	21,67±0,98 ^a	22,69±0,87 ^c	23,63±1,12 ^b	23,40±1,33 ^{b,c}
Carboidratos	0,64±0,21 ^a	0,26±0,31 ^b	0,74±0,43 ^a	0,34±0,34 ^b
Energia	116,02±9,11 ^a	117,07±10,77 ^a	169,24±7,01 ^b	170,41±7,84 ^b

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes (Teste de Tukey) para $p < 0,05$.

T0: produto acabado; T60: fim de validade; ND: não detetado

Observando a **Tabela 6** é possível corroborar o que se concluiu da análise da **Tabela 5**, isto é, os valores obtidos estão claramente divididos por tipo de produto, sendo que o tempo de amostragem apresenta muito pouca influência nos resultados obtidos, o que indica que a composição centesimal dos produtos se mantém inalterada até ao final do período estimado de validade de 60 dias.

É bastante perceptível que a % de humidade é mais elevada na carne de bovino (aproximadamente 72%), do que na de bovino e porco (aproximadamente 65%). Santos et al. (2003) fizeram um estudo com morcelas, linguiças de sangue cozidas, no qual se obtiveram valores idênticos aos obtidos para cabeça de xara de bovino e porco. Laranjo et al. (2019), num estudo feito com cabeça de xara e Junior et al. (2014), em queijo de porco, uma versão brasileira da cabeça de xara, obtiveram valores mais baixos, que rondam os 50-60% de humidade. Kerr et al. (2005) obtiveram valores muito semelhantes ($71,8 \pm 0,2$ g/100g) para lombo de porco.

A percentagem de cinzas é mais elevada na cabeça de xara apenas com carne de bovino, que apresenta valores de $2,49 \pm 0,57$ e $2,42 \pm 0,49$ g/100g, para produto acabado e fim de validade, respetivamente. Para carne de bovino e porco, os valores são $2,06 \pm 0,46$ e $2,06 \pm 0,50$ g/100g para produto acabado e fim de validade, respetivamente. Estes valores são semelhantes aos relatados por Laranjo et al. (2019), onde o valor médio obtido foi 2,35%. Santos et al. (2003) relataram valores consideravelmente mais elevados, que rondam os 4% de teor em cinzas. Valores ainda mais elevados foram obtidos por Junior et al. (2014), onde o valor médio obtido foi 7,63%. Kerr et al. (2005) é a exceção, com valores ligeiramente mais baixos ($1,1 \pm 0,3$ g/100g).

O teor em lípidos é a variável em que há uma maior discrepância entre produtos. Ao adicionar a carne de porco, o teor em lípidos aumenta para mais do dobro, de valores próximos de 3% para valores próximos de 8%. Os valores relatados por outros autores (Junior et al., 2014; Laranjo et al., 2019; Santos et al., 2003) foram todos altamente superiores aos obtidos (superiores a 15%). Estes valores podem ser explicados pelo facto de a raça Cachena ser caracterizada por apresentar pouco teor em lípidos intramuscular, e tendo em conta que as amostras comparadas são todas elas de cabeça de xara tradicional de porco. Mais uma vez, Kerr et al. (2005) é a exceção, com valores para lombo de porco altamente mais baixos ($1,6 \pm 0,3$ g/100g).

Os valores de proteína foram ligeiramente mais elevados em cabeça de xara de Cachena + porco. Para o produto acabado, os valores obtidos foram $21,67 \pm 0,98$ e $23,63 \pm 1,12$ g/100g para cabeça de xara de Cachena e Cachena + porco, respetivamente. Valores mais baixos foram obtidos por

Santos et al. (2003) e Laranjo et al. (2019), que rondaram os 15%. Junior et al. (2014) obtiveram valores muito semelhantes, sendo que o valor médio foi $20,88 \pm 3,03$ g/100g. Valores ainda mais idênticos foram obtidos por Kerr et al. (2005), com um valor médio $23,3 \pm 0,4$ g/100g. Os valores obtidos são característicos de um produto rico em proteína, especialmente colagénio, o que vai de encontro ao relatado no capítulo revisão bibliográfica.

Os valores de carboidratos são mais elevados nas amostras com adição de porco. Para produto acabado, os valores rondam os 0,70 g/100g. Estes diminuem consideravelmente em fim de validade, onde os valores estão próximos de 0,30 g/100g. Tendo em conta que os valores de carboidratos são conseguidos por cálculo, através dos valores de humidade, cinzas, lípidos e proteína, não deveriam existir diferenças estatísticas entre variáveis, ou seja, o tempo de amostragem não deveria ter apresentado diferenças significativas para o teor em carboidratos. A diminuição dos valores ao longo do tempo de armazenamento pode dever-se a dois tipos de erros: um erro estatístico, sendo que se trata de valores residuais e, por esse motivo, qualquer pequena diferença poderá ter significância estatística; ou um erro experimental, nomeadamente na determinação da humidade ou do teor em lípidos. Algumas das amostras podiam não estar completamente secas para as determinações, o que poderá ter enviesado alguns resultados. Valores mais elevados foram obtidos pelos autores citados (Junior et al., 2014; Laranjo et al., 2019; Santos et al., 2003), o que pode ser explicado pelo facto de nestes, a percentagem de humidade ter sido consideravelmente mais baixa. Em Kerr et al. (2005), os valores também foram mais elevados ($1,8 \pm 0,5$ g/100g), o que pode dever-se aos valores mais baixos de teor em lípidos.

No entanto, de acordo com a Tabela da Composição de Alimentos (TCA) do INSA (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge) (INSA, 2022), existem teores residuais ou mesmo ausentes de carboidratos em alguns produtos cárneos. Por exemplo, com valores nulos temos inúmeros produtos cárneos, como bife de vaca grelhado, entrecosto de porco cozido, hamburger de vaca cru, lombo de porco e vaca crus e salsicha fresca crua. O bife de vitela e o chispe de porco apresentam 0,2 g/100g de teor de carboidratos e a cabeça de porco 0,3 g/100g, todos eles valores residuais (INSA, 2022).

Os valores energéticos são mais elevados para as amostras com carne de porco, cujos valores rondam as 170 kcal/100g, ao invés das amostras apenas com carne de bovino, cujos valores rondam as 116 kcal/100g. Valores mais elevados foram obtidos por Laranjo et al. (2019) e Junior et al. (2014), que rondaram as 247 e 228 kcal/100g, respetivamente.

Comparando com produtos cárneos de formulação semelhante, como o caso da mortadela de porco, Mohammed et al. (2015) obtiveram valores mais baixos de humidade e proteína, mais elevados de teor em lípidos e carboidratos, e valores semelhantes de cinzas, enquanto Viuda-Martos et al. (2010) já obtiveram valores mais próximos de humidade (próximo de 65 g/100g).

Pode concluir-se que são dois produtos com elevada humidade, mas composições distintas, nomeadamente em termos de teor em lípidos. Em ambos os produtos, a fração mais elevada é de humidade, seguida da de proteína e de lípidos.

5.2. Parâmetros físico-químicos

Na **Tabela 7** é apresentada a análise de variância para os valores de pH e da a_w , considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

Tabela 7: Análise de variância para os resultados do pH e da a_w , considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

PARÂMETRO	FATORES						
	S	TP		TA		TP x TA	
		F	p	F	p	F	p
pH	0,4250	0,5178(N.S.)	18,2203	0,0001***	0,5551	0,4602(N.S.)	
a_w	0,9976	0,3234(N.S.)	0,2397	0,6269(N.S.)	0,5251	0,4725(N.S.)	

N.S.: não significativo; * significativo para $p < 0,05$; ** significativo para $p < 0,01$; *** significativo para $p < 0,001$.

A análise da **Tabela 7** permite perceber que ambos os fatores se mostraram não significativos ($p \geq 0,05$) para o pH e a a_w , à exceção do tempo de amostragem, que se mostrou altamente significativo ($p < 0,001$) para o pH. A interação entre os dois fatores também se mostrou não significativa ($p \geq 0,05$) em ambas as variáveis.

Esta análise pode levar à conclusão de que os valores de pH e a_w não dependem de nenhum dos fatores avaliados, uma vez que a única exceção é uma ligeira diferença entre os valores de pH relativamente ao tempo de amostragem.

Na **Tabela 8** apresentam-se os valores médios e desvios padrão para o pH e a a_w obtidos nas amostras de cabeça de xara.

Tabela 8: Resultados de ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise de pH e a_w , em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.

TP	CX		CX + PORCO	
TA	0	60	0	60
pH	5,83±0,12 ^{a,b}	5,64±0,27 ^a	5,90±0,17 ^b	5,63±0,15 ^a
a_w	0,95±0,01	0,95±0,01	0,96±0,01	0,96±0,01

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes (Teste de Tukey) para $p < 0,05$.

T0: produto acabado; T60: fim de validade; ND: não detetado

A análise da **Tabela 8** permite inferir que relativamente aos valores médios obtidos para o pH houve diferenças significativas ao longo do tempo de amostragem, havendo uma redução dos mesmos do tempo 0, isto é, do produto acabado, para o produto em fim de validade. As variâncias encontradas entre os valores de pH podem dever-se à carga microbiana das amostras.

Para produto acabado, os valores médios de pH vão de 5,83-5,90, enquanto em fim de validade, esses valores baixam para 5,63-5,64. Laranjo et al. (2019) e Laranjo et al. (2018) estudaram o comportamento da cabeça de xara de porco, sendo que estes resultados estão próximos dos obtidos por esses autores. Em Laranjo et al. (2019) os valores variaram entre 5,80-6,23 e em Laranjo et al. (2018), o valor médio de pH foi 5,93. Silva Junior et al. (2020) analisaram um produto semelhante, o queijo de porco, e obtiveram também valores de pH próximos (5,88-6,70), tal como aconteceu com Hernández-Hernández et al. (2009), que estudaram o comportamento de “massa de porco”, e no qual o valor médio obtido foi 5,70. Um estudo com mortadela, realizado por Viuda-Martos et al. (2010), demonstrou valores ligeiramente mais elevados de pH (6,30±0,02), assim como o estudo de Šojić et al. (2019), com salsichas de porco cozidas, onde o valor médio inicial rondou 6,16±0,01.

Em relação aos resultados obtidos para a a_w , pode concluir-se que estes não apresentam diferenças significativas entre eles, sendo que todos os valores se mostraram constantes independentemente dos fatores tempo e tipo de produto. Os valores variaram entre 0,95 e 0,96. Valores extremamente semelhantes foram obtidos pelos outros autores referidos, sendo que em Laranjo et al. (2019) os valores variaram entre 0,98 e 0,99, em Laranjo et al. (2018) o valor médio obtido para a a_w foi de 0,98, e em Silva Junior et al. (2020) entre 0,95-0,97. Viuda-Martos et al. (2010) obtiveram valores mais baixos (0,89±0,00).

Estes resultados sugerem que os produtos estudados apresentam maior estabilidade, uma vez que apresentam valores de pH ligeiramente inferiores aos já estudados, e valores de a_w

semelhantes. Estes valores fazem sentido tendo em conta que se utilizou vinagre no embalamento, que é um conservante natural, devido à sua acidez. No entanto, este não é normalmente utilizado para conservação da cabeça de xara, o que explica o porquê de os valores de pH obtidos serem inferiores aos obtidos para a cabeça de xara tradicional.

5.3. Parâmetros microbiológicos

Na **Tabela 9** apresenta-se a análise de variância para os parâmetros microbiológicos, considerando os fatores tempo de amostragem e tipo de produto.

Tabela 9: Análise de variância para os resultados microbiológicos, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

PARÂMETROS	FATORES					
	TP		TA		TP x TA	
	F	p	F	p	F	p
Mesófilos	2,104	0,1540(N.S.)	32,7073	0,0000***	5,6930	0,0214*
Psicrotróficos	3,7248	0,0601(N.S.)	28,3834	0,0000***	4,5020	0,0395*
BAL	2,3819	0,1299(N.S.)	161,1793	0,0000***	6,6390	0,0134*
Estafilococos	0,0109	0,9173(N.S.)	0,2452	0,6230(N.S.)	5,2861	0,0263*
Enterobactérias	0,6448	0,4263(N.S.)	36,1808	0,0000***	0,8140	0,3719 (N.S)
Leveduras	0,9188	0,3430(N.S.)	136,8353	0,0000***	0,2400	0,6245 (N.S)
Bolores	0,1225	0,7280(N.S.)	16,9883	0,0002***	0,0509	0,8224 (N.S)
Listeria monocytogenes	1,0000	0,3228(N.S.)	1,0000	0,3228(N.S.)	1,0000	0,3228 (N.S)
Clostridium perfringens	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

N.S.: não significativo; * significativo para $p < 0,05$; ** significativo para $p < 0,01$; *** significativo para $p < 0,001$.

A análise da **Tabela 9** permite concluir que o fator tipo de produto não foi significativo ($p \geq 0,05$) para nenhuma das variáveis em estudo. O fator tempo de amostragem, mostrou-se altamente significativo para todas as variáveis, à exceção dos estafilococos e *Listeria monocytogenes* para os quais se mostrou não significativo ($p \geq 0,05$). A interação entre as variáveis tempo e tipo de produto não foi significativa ($p \geq 0,05$) para as enterobactérias, leveduras, bolores e *L. monocytogenes* e significativa para todas as outras.

Na **Tabela 10** apresentam-se os valores médios e desvios padrão para os parâmetros microbiológicos obtidos nas amostras de cabeça de xara.

Tabela 10: Resultados de ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise microbiológica, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.

TP	CX		CX + PORCO	
TA	0	60	0	60
Mesófilos	7,05±2,38 ^a	10,21±0,56 ^c	8,55±0,88 ^b	9,85±0,76 ^{b,c}
Psicrotróficos	6,93±2,37 ^a	9,85±0,71 ^b	8,52±0,93 ^b	9,77±0,64 ^b
BAL	6,40±1,13 ^a	9,61±0,19 ^c	7,26±0,85 ^b	9,39±0,30 ^c
Estafilococos	2,80±1,01	3,89±0,79	3,74±1,46	3,04±1,89
Enterobactérias	4,36±1,09 ^a	6,63±1,21 ^b	4,39±1,27 ^a	6,07±0,93 ^b
Leveduras	4,94±0,30 ^a	6,22±0,38 ^b	4,89±0,41 ^a	6,07±0,35 ^b
Bolores	0,25±0,87 ^{a,b}	1,94±2,06 ^c	0,00±0,00 ^a	1,89±2,01 ^{b,c}
<i>L. monocytogenes</i>	0,00±0,00	7,50±25,98	0,00±0,00	0,00±0,00
<i>C. perfringens</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Salmonella spp.	ND	ND	ND	ND

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes (Teste de Tukey) para $p < 0,05$.

Observando a **Tabela 10** podemos constatar que, para a contagem de microrganismos mesófilos, ao longo do tempo de amostragem, existiram algumas diferenças com significado estatístico, nomeadamente, um aumento do número de microrganismos no fim de validade relativamente ao produto acabado. Podemos também observar que o valor contado para cabeça de xara no produto acabado foi o mais baixo e significativamente diferente dos restantes. Avaliando os tipos de produto, não parece que estes tenham tido um papel nas diferenças significativas encontradas na contagem de microrganismos mesófilos. Assim, podemos concluir que apenas o tempo de amostragem influenciou o número de microrganismos mesófilos encontrados nas amostras

Os valores para mesófilos variaram entre 7,05-10,21 log ufc/g, valores idênticos aos observados em Laranjo et al. (2019), entre os meses 1 e 3 de armazenamento. No entanto, a contagem do produto acabado foi de 2,73 log ufc/g, um valor muito mais baixo do que os encontrados neste estudo. Em Laranjo et al. (2018), a contagem média rondou os 7,6 log ufc/g, o que vai de encontro ao obtido, uma vez que este valor diz respeito ao produto com 3 meses de armazenamento e os valores correspondentes para este ensaio rondam os 10 log ufc/g.

Na contagem de microrganismos psicrotróficos observou-se, à semelhança da contagem de mesófilos, um aumento do número destes microrganismos em fim de validade, relativamente ao produto acabado, assim como o valor mais baixo encontrado foi o de cabeça de xara no

produto acabado (6,23 log ufc/g), sendo os restantes valores muito próximos entre si (próximos de 9 log ufc/g). Os valores obtidos são igualmente superiores aos relatados pelos autores já referidos (Laranjo et al., 2018, 2019). Cachaldora et al. (2013), num estudo realizado com morcela, obtiveram resultados semelhantes aos de cabeça de xara de Cachena para o produto acabado, mas mais baixos que os de cabeça de xara de Cachena + porco. Os valores foram diminuindo ao longo do tempo de armazenamento (2 meses), contrariamente ao sucedido neste estudo. Os valores iniciais foram de $5,89 \pm 0,50$ log ufc/g e acabaram em 4 log ufc/g, aproximadamente. Martínez et al. (2006), obtiveram valores mais baixos, para salsichas de porco, que foram aumentando ao longo do tempo de armazenamento (24 dias). O valor inicial foi 4,80 log ufc/g, que aumentou até valores semelhantes aos obtidos neste estudo, mas para o produto acabado.

As contagens de bactérias lácticas revelaram diferenças significativas idênticas às contagens anteriores, isto é, maior número de bactérias em fim de validade. No produto acabado podemos observar uma ligeira diferença significativa entre os dois tipos de produto, sendo que cabeça de xara de Cachena + porco apresenta um valor de concentração superior. Cachaldora et al. (2013) obtiveram resultados ligeiramente inferiores para produto acabado ($6,07 \pm 0,82$ log ufc/g), sendo que houve mais uma vez diminuição dos mesmos durante o tempo de amostragem, com um valor final após os dois meses de, aproximadamente, 3,5 log ufc/g. Em Pexara et al. (2002), os valores obtidos foram mais baixos, para salsichas de porco cozidas, sendo que aumentaram de, aproximadamente, 3 log ufc/g para mais de 8 log ufc/g, no espaço de um mês. Ruiz Capillas & Jiménez Colmenero (2010), ao estudarem também salsichas de porco, obtiveram valores consideravelmente mais baixos, sendo que o valor no fim do tempo de armazenamento (21 dias) é menor que o valor obtido neste estudo, no produto acabado.

A contagem de estafilococos não apresentou diferenças estatisticamente significativas, uma vez que todos os valores são muito próximos.

As enterobactérias apresentaram um comportamento semelhante ao já relatado, isto é, houve um aumento do número de microrganismos ao longo do tempo. Os valores em fim de validade mostraram-se muito próximos dos relatados em Laranjo et al. (2018, 2019) (valores próximos de 6 log ufc/g). Os valores de enterobactérias obtidos por Ruiz Capillas & Jiménez Colmenero (2010), foram mais baixos, e não sofreram um aumento significativo durante o período de armazenamento (3,51-3,68 log ufc/g).

As leveduras apresentaram valores e comportamento semelhantes às enterobactérias. No entanto, o valor médio obtido em Laranjo et al. (2018) é relativamente mais baixo do que o

conseguido no estudo, correspondendo aos valores encontrados para o produto acabado. Os valores obtidos em Laranjo et al. (2019) também se revelaram mais baixos. Cachaldora et al. (2013) obtiveram valores semelhantes aos obtidos no produto acabado (aproximadamente $3,85 \pm 0,61$ ufc/g), ainda que a evolução destes tenha sido distinta, uma vez que não houve mudanças significativas dos valores ao longo dos dois meses de armazenamento e, neste estudo, houve um aumento.

A contagem de bolores também mostrou diferenças significativas, sendo que para produto acabado, as amostras de cabeça de xara com carne de porco e bovino não continham qualquer tipo de contaminação, e em fim de validade sim, o que quer dizer que esta ocorreu durante o armazenamento do produto.

Houve contaminação por *L. monocytogenes* apenas num dos produtos (cabeça de xara com carne de porco) em fim de validade, sendo que o valor obtido para esse produto é muito superior ao encontrado nos autores já referenciados (Laranjo et al., 2018, 2019). Apesar disso, este tipo de produto é muito conhecido por contaminação por *Listeria monocytogenes*. Por exemplo, em 2010, houve um surto de listeriose em Louisiana, EUA, que contou com 8 casos (*Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), 2011), e entre 2015 e 2016, em Itália, ocorreu outro surto que contou com 24 casos clínicos confirmados.

Não houve contaminação dos produtos por *Clostridium perfringens* ou *Salmonella spp.*

De um modo geral, houve um aumento de microrganismos do produto acabado para fim de validade, o que faz sentido, uma vez que o produto em fim de validade tem muito mais suscetibilidade para uma maior contaminação, uma vez que os microrganismos tiveram mais tempo para se multiplicar. Por outro lado, de um modo geral, os valores obtidos no produto acabado para este estudo mostraram-se superiores aos dos restantes autores (Laranjo et al., 2018, 2019). Isto pode dever-se ao facto de a contaminação ter ocorrido aquando da confeção do produto e, por isso, os microrganismos tiveram mais tempo para se reproduzirem.

O aumento da microbiota com o tempo de armazenamento também pode ter contribuído para a diminuição do pH ao longo do tempo (que foi observado anteriormente), por meio da produção de ácidos orgânicos, como o ácido láctico

Relativamente aos valores legislados pela FSAI (2016), os resultados obtidos neste estudo são considerados insatisfatórios para as enterobacérias, tanto nos produtos acabados, como em fim de validade, uma vez que os valores ultrapassam 4 log ufc/g. O mesmo acontece para a contagem de colónias aeróbias, cujos valores ultrapassam 8 log ufc/g. Dentro destas, as

leveduras e as BAL apresentam resultados insatisfatórios para os produtos em fim de validade, uma vez que a deterioração ocorre entre 6-7 log ufc/g e a partir de 9 log ufc/g, para as leveduras e as BAL, respetivamente. A deterioração ocorre devido à produção de ácido e gás. Embora estes resultados não sejam indicativos de produtos inseguros, resultados insatisfatórios representam níveis insatisfatórios de contaminação microbiana e indicam que patogénicos podem estar presentes.

5.4. Determinação de aminas biogénicas

Na **Tabela 11** apresenta-se a análise de variância para os resultados das AB, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

Tabela 11: Análise de variância para as aminas biogénicas, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

PARÂMETROS	FATORES					
	TP		TA		TP x TA	
	F	p	F	p	F	p
Triptamina	243,1483	0,0000***	1047,0658	0,0000***	23,5193	0,0000***
β -Feniletilamina	3,4548	0,0635(N.S.)	3,8610	0,0498*	10,1908	0,0015**
Putrescina	212,1548	0,0000***	26827,3653	0,0000***	133,400	0,0000***
					0	
Cadaverina	719,7255	0,0000***	12440,2649	0,0000***	94,6606	0,0000***
Histamina	281,4654	0,0000***	198,8725	0,0000***	53,4698	0,0000***
Tiramina	6,3787	0,0118*	1,4588	0,2275(N.S.)	0,2605	0,6099(N.S.)
)
Espermidina	399,3481	0,0000***	21,2178	0,0000**	19,1755	0,0000**
Espermina	9,0930	0,0027**	2,0642	0,1512(N.S.)	7,0375	0,0081**
Aminas Vasoativas	275,5078	0,0000***	511,2850	0,0000***	81,9542	0,0000***
Aminas Totais	350,2892	0,0000***	23354,4866	0,0000***	94,9388	0,0000***

N.S.: não significativo; * significativo para $p < 0,05$; ** significativo para $p < 0,01$; *** significativo para $p < 0,001$.

A leitura da **Tabela 11** permite inferir que o fator tipo de produto foi não significativo ($p \geq 0,05$) para a β -feniletilamina, significativo ($p < 0,05$) para a tiramina, muito significativo ($p < 0,01$) para a espermina e altamente significativo ($p < 0,001$) para todas as outras AB, incluindo aminas vasoativas e totais. O fator tempo de amostragem apresentou significância nula ($p \geq 0,05$) para a

tiramina e espermina, significância ($p < 0,05$) para a β -feniletilamina, muita significância ($p < 0,01$) para a espermidina e uma alta significância ($p < 0,001$) para as restantes variáveis. A interação entre ambos foi não significativa ($p \geq 0,05$) para a tiramina, muito significativa ($p < 0,01$) para a β -feniletilamina, espermidina e espermina e altamente significativa ($p < 0,001$) para as restantes variáveis.

Na **Tabela 12** apresentam-se os valores médios e os desvios padrão para as aminas biogénicas.

Tabela 12: Resultados de ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise do perfil de aminas biogénicas (peso fresco), em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.

TP	CX		CX + PORCO	
	0	60	0	60
Triptamina	13,93±3,91 ^a	5,46±3,71 ^c	20,22±5,22 ^b	8,77±4,05 ^d
β-feniletilamina	0,44±1,94 ^a	2,59±10,56 ^b	0,99±3,63 ^a	0,48±2,32 ^a
Putrescina	160,03±20,41 ^a	732,93±76,50 ^b	171,37±22,72 ^a	831,20±63,95 ^c
Cadaverina	7,44±3,83 ^a	47,00±6,18 ^c	14,09±4,61 ^b	61,20±6,47 ^d
Histamina	6,33±7,45 ^a	2,95±5,72 ^c	18,32±8,38 ^b	7,66±5,65 ^a
Tiramina	0,71±2,54 ^a	0,61±2,36 ^{a,b}	0,41±1,97 ^{a,b}	0,15±1,20 ^b
Espermidina	17,13±0,61 ^a	17,56±0,63 ^c	18,30±0,77 ^b	18,31±0,64 ^b
Espermina	11,16±3,54 ^a	10,35±0,91 ^b	11,23±2,26 ^a	11,47±3,38 ^a
Aminas Vasoativas	21,41±8,76	11,61±12,34	39,94±11,41	17,06±6,48
Aminas Totais	217,16±24,37	819,45±83,18	254,93±30,58	939,25±71,83

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes (Teste de Tukey) para $p < 0,05$.

T0: produto acabado; T60: fim de validade; ND: não detetado

A análise da **Tabela 12** permite concluir que as AB mais abundantes são a putrescina, cadaverina e histamina e, pelo contrário, a menos abundante é a β -feniletilamina, com valores entre 0,44±1,94 e 2,59±10,56 mg/kg.

A histamina é a amina responsável por aquilo a que se chama “envenenamento por histamina”. Os sintomas mais comuns de envenenamento por histamina são devidos ao efeito no sistema cardiovascular, produzindo pressão arterial baixa, vermelhidão da pele e dores de cabeça, edemas e erupções cutâneas típicas de reações alérgicas (Bardócz, 1995; Stratton et al., 1991). Como referido no capítulo revisão bibliográfica (Nunez et al., 2016), os produtos alimentícios são considerados tóxicos quando contêm valores de histamina superiores a 500 mg/kg e prejudiciais, para pessoas imunocomprometidas, quando contêm 5-10 mg/kg. Para o primeiro caso, não haveria nenhum tipo de perigo na ingestão de qualquer um dos produtos. No entanto, o mesmo não se pode afirmar para o segundo caso, uma vez que os valores são, quase todos,

superiores a 5 mg/kg e, no produto acabado para cabeça de xara + porco, temos um valor de $18,32 \pm 8,38$ mg/kg, considerado um limite tolerável para pessoas imunocomprometidas.

A putrescina e a cadaverina, embora não sejam consideradas tóxicas individualmente, podem aumentar o efeito da histamina ao interagir com as aminooxidasas e interferir no mecanismo de desintoxicação.

Para a triptamina e histamina houve uma diminuição do conteúdo de amins ao longo do tempo, enquanto para a putrescina e cadaverina houve um aumento. Nas restantes amins, os resultados são menos perceptíveis, no sentido em que, a espermidina sofreu um aumento em cabeça de xara de Cachena e manteve-se constante em cabeça de xara + porco, e a espermina sofreu uma diminuição em cabeça de xara de Cachena e um aumento em cabeça de xara + porco. Os valores de β -feniletilamina e tiramina mantiveram-se praticamente constantes ao longo do tempo, não havendo diferenças significativas a apontar.

Similarmente ao ocorrido neste estudo, em Laranjo et al. (2018, 2019), a amina mais abundantemente encontrada foi a putrescina, seguida da cadaverina, e a menos abundante foi em ambos os casos a β -feniletilamina sendo que em Laranjo et al. (2018) nem foi encontrada.

Em Laranjo et al. (2019) os valores da triptamina também sofreram uma diminuição ao longo do tempo, apesar de esses valores serem mais baixos que os obtidos neste estudo. Em (Laranjo et al., 2018), o valor após 3 meses de armazenamento também foi mais baixo que os obtidos em fim de validade.

Os valores de putrescina para cabeça de xara + porco são muito semelhantes aos encontrados em Laranjo et al. (2019), assim como o aumento destes valores ao longo do tempo. Para produto acabado, o valor foi $171,37 \pm 22,72$ mg/kg, sendo que no artigo citado foi $187,52 \pm 27,10$ mg/kg. Em fim de validade o valor foi $831,20 \pm 63,95$ mg/kg e $741,29 \pm 186,75$ mg/kg, no artigo citado.

Os valores de cadaverina foram mais elevados no produto acabado, relativamente aos valores obtidos por Laranjo et al. (2019), mas semelhantes em fim de validade, tanto em Laranjo et al. (2018) como em Laranjo et al. (2019).

Os valores de histamina foram claramente mais elevados que os dos artigos citados. Contrariamente ao ocorrido em Laranjo et al. (2019), neste estudo houve uma diminuição dos valores ao longo do tempo.

Relativamente aos artigos citados (Laranjo et al., 2018, 2019), obtiveram-se valores mais baixos para a tiramina e espermina e mais elevados para a espermidina.

Tendo em conta o teor máximo de AB totais proposto em Ladero et al. (2010), com valores entre 750 e 900 mg/kg, podemos observar que este só foi ultrapassado para as amostras com carne de porco, em fim de validade. No entanto, o valor de 1000 mg/kg a partir do qual os alimentos são considerados perigosos para consumo, não foi atingido ou ultrapassado.

Em suma, os valores encontrados foram os expectáveis para um produto cárneo deste tipo, especialmente com os valores microbiológicos elevados obtidos. É possível também entender que a adição de porco à composição do produto desencadeia uma maior produção de AB o que, conseqüentemente, contribui para uma diminuição da qualidade do produto cárneo.

5.5. Determinação da cor

Na **Tabela 13** apresenta-se a análise de variância para os resultados da cor, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

Tabela 13: Análise de variância para os resultados da cor, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

PARÂMETROS	FATORES					
	TP		TA		TP x TA	
	F	p	F	p	F	p
L*	193,3984	0,0000***	143,5302	0,0000***	0,0292	0,8645(N.S.)
a*	19,8489	0,0000***	16,7225	0,0001***	0,2391	0,6251(N.S.)
b*	102,4180	0,0000***	4,4249	0,0361*	3,7278	0,0543(N.S.)
c*	69,2945	0,0000***	17,5444	0,0000***	0,2997	0,5844(N.S.)
H°	2,5550	0,1108(N.S.)	7,2890	0,0072**	2,1467	0,1437(N.S.)

N.S.: não significativo; * significativo para $p < 0,05$; ** significativo para $p < 0,01$; *** significativo para $p < 0,001$.

A análise da **Tabela 13** permite retirar as conclusões de que o fator tipo de produto foi altamente significativo ($p < 0,001$) para todas as variáveis à exceção do H°, para o qual foi não significativo ($p \geq 0,05$). O fator tempo de amostragem foi significativo ($p < 0,05$) para b*, muito significativo ($p < 0,01$) para H° e altamente significativo para as restantes variáveis. A interação entre os dois fatores mostrou-se não significativa ($p \geq 0,05$) para todas as variáveis.

Na **Tabela 14** apresentam-se os valores médios e os desvios padrão para os resultados da análise da cor.

Tabela 14: Resultados de ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise da cor, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.

TP	CX		CX + PORCO	
TA	0	60	0	60
L*	43,32±2,93 ^a	46,85±2,37 ^b	47,41±43,32 ^b	50,84±2,96 ^c
a*	13,93±2,70 ^{a,b}	14,83±2,18 ^b	12,69±2,54 ^c	13,84±2,38 ^a
b*	13,29±1,66 ^a	13,89±1,39 ^c	12,08±1,61 ^b	12,10±1,09 ^b
C*	19,36±2,44 ^a	20,39±2,01 ^c	17,66±2,02 ^b	18,45±2,07 ^d
H°	44,04±6,06 ^a	43,31±4,50 ^{a,b}	43,96±7,29 ^a	41,50±4,88 ^b

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes (Teste de Tukey) para $p < 0,05$.

T0: produto acabado; T60: fim de validade; ND: não detetado

Ao observar a **Tabela 14**, entende-se que houve diferenças estatísticas significativas para todas as variáveis estudadas.

Pelo que se observa, os produtos com carne de porco parecem ser mais claros que os produtos apenas com bovino uma vez que se obtiveram valores de L* (luminosidade) mais elevados para esses, o que seria de esperar, tendo em conta que a carne de porco é mais clara que a de vaca. Parece também haver um aumento desses valores de produto acabado para fim de validade, o que implica que as amostras ficaram mais claras durante o armazenamento, contrariamente ao que seria de esperar, tendo em conta que (Hernández-Hernández et al., 2009) sugerem que a oxidação lipídica afeta os produtos cárneos para cores mais escuras e, portanto, valores mais baixos de L*. Os valores de cabeça de xara e cabeça de xara + porco para produto acabado foram 43,32±2,93 e 47,41±3,07, respetivamente, enquanto para fim de validade foram 46,85±2,37 e 50,84±2,96, respetivamente. Silva Junior et al. (2020) obtiveram valores ligeiramente superiores, que variaram de 48,19 a 58,39, dependendo da marca de queijo de porco analisada. Zahid et al. (2018) que avaliaram a cor em hambúrgueres de vaca, obtiveram valores semelhantes aos destes últimos. Oellingrath & Slinde (1985) analisaram um rolo de carne com carne de bovino e porco, tendo obtido valores ainda mais elevados (63,2±0,1), próximos dos obtidos por Viuda-Martos et al. (2010), no seu estudo com mortadela. Os valores mais elevados foram obtidos por Šojić et al. (2019), no seu estudo com salsichas de porco cozidas que, comparando com os resultados obtidos apresentaram uma luminosidade consideravelmente superior, com valores de L* a rondar 73,4±0,47, idênticos aos valores obtidos por Hernández-Hernández et al. (2009). Ruiz Capillas & Jiménez Colmenero (2010) obtiveram valores muito semelhantes (aproximadamente 46), para salsichas de porco, ainda que estes tenham sofrido uma diminuição durante o tempo de armazenamento.

Em relação aos valores de a^* , confirma-se que o tempo de amostragem apresenta significância para os mesmos, sendo que lhes confere um aumento, ainda que pouco considerável, aumento esse também visível em Šojić et al. (2019). Os valores apresentados pelos autores citados acima (Oellingrath & Slinde, 1985; Silva Junior et al., 2020; Šojić et al., 2019; Viuda-Martos et al., 2010; Zahid et al., 2018) foram todos eles inferiores aos obtidos, sendo que os valores oscilaram, para os cinco autores, entre 2,4 e 12,39, o que indica que as amostras analisadas neste estudo apresentam uma coloração mais vermelha. A exceção foi o estudo de Ruiz Capillas & Jiménez Colmenero (2010), cujos valores foram mais elevados que os deste estudo, tendo rondado valores próximos de 20 para este parâmetro. Contrariamente ao ocorrido neste estudo, os valores diminuíram ao longo do tempo.

Os valores obtidos para a coordenada b^* não foram influenciados pelo tipo de produto ou tempo de amostragem, tendo-se mantido constantes. Relativamente aos resultados obtidos pelos autores citados, Silva Junior et al. (2020), Viuda-Martos et al. (2010), Ruiz Capillas & Jiménez Colmenero (2010) e Zahid et al. (2018), esses revelaram-se mais baixos (entre 6 e 10) e em Oellingrath & Slinde (1985) um valor mais alto de $16,4 \pm 0,3$.

O parâmetro C^* é claramente influenciado pelo tipo de produto das amostras, sendo que as amostras apenas com carne de bovino apresentam valores superiores, o que indica que estas apresentam uma cor mais vibrante e saturada. Apenas Zahid et al. (2018) analisaram os parâmetros C^* e h° , tendo obtido para C^* valores idênticos. Hernández-Hernández et al. (2009) obtiveram valores ligeiramente mais baixos (16,17).

O parâmetro H° é altamente influenciado pelo tempo de amostragem, sofrendo uma diminuição ao longo deste, contrariamente ao sucedido no estudo de Zahid et al. (2018), onde os valores vão aumentando com o tempo de armazenamento. Hernández-Hernández et al. (2009) obtiveram valores muito superiores (81,41), que remetem para uma coloração mais amarelada, e não avermelhada.

5.6. Determinação da textura

Na **Tabela 15** apresenta-se a análise de variância para os resultados da textura, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

Tabela 15: Análise de variância para os resultados da textura, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

PARÂMETROS	FATORES					
	TP		TA		TP x TA	
	F	p	F	p	F	p
Força	106,7406	0,0000***	3,5228	0,0616(N.S.)	0,0010	0,9744(N.S.)
Gradiente	167,0116	0,0000***	33,2180	0,0000***	0,0002	0,9895(N.S.)
Área	59,9942	0,0000***	1,4176	0,2348(N.S.)	0,0033	0,9541(N.S.)

N.S.: não significativo; * significativo para $p < 0,05$; ** significativo para $p < 0,01$; *** significativo para $p < 0,001$.

A **Tabela 15** permite concluir que o fator tipo de produto apresentou alta significância ($p < 0,001$) sobre os resultados obtidos. O tempo de amostragem apresentou alta significância ($p < 0,001$) para a variável gradiente, e não apresentou significância ($p \geq 0,05$) para as restantes variáveis.

Em relação à interação entre eles, mostrou-se não significativa ($p \geq 0,05$) para a força, muito significativa ($p < 0,01$) para o gradiente e significativa ($p < 0,05$) para a área.

Na **Tabela 16** apresentam-se os valores médios e os desvios padrão para a análise da textura.

Tabela 16: Resultados de ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise do perfil de textura, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.

TP	CX		CX + PORCO	
	0	60	0	60
Força (N)	5,67±3,68 ^a	6,44±1,82 ^a	9,81±4,86 ^b	10,55±2,33 ^b
Gradiente (N/mm)	0,88±0,51 ^a	1,25±0,36 ^c	1,70±0,74 ^b	2,07±0,47 ^d
Área (N mm)	17,20±12,30 ^a	15,66±4,48 ^a	26,69±15,29 ^b	25,30±5,80 ^b

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes (Teste de Tukey) para $p < 0,05$.

T0: produto acabado; T60: fim de validade; ND: não detetado

Neste ensaio foi utilizada uma sonda de penetração múltipla, ao invés de uma sonda simples, uma vez que as amostras de cabeça de xara são extramamente heterogêneas, não uniformes, com partículas de diferentes tamanhos e formas, nomeadamente de grãos de pimenta. No caso de uma sonda normal, se esta penetrasse um grão de pimenta, os resultados seriam claramente enviesados pela leitura. Como esta sonda é de penetração múltipla, é possível medir a textura de toda a amostra.

O parâmetro da força corresponde à força máxima necessária para que a sonda penetre a amostra, sendo um parâmetro equivalente à dureza da amostra. É possível observar, através da **Tabela 16**, que a força necessária para penetrar a amostra não sofre diferenças significativas ao

longo do tempo de amostragem. É de realçar que é necessária uma força significativamente maior para penetrar as amostras com carne de porco, sendo que os valores para produto acabado são $5,67 \pm 3,68$ e $9,81 \pm 4,86$ N para as amostras sem e com carne de porco, respetivamente. No estudo da caracterização da mortadela, Viuda-Martos et al. (2010) obtiveram valores de dureza das amostras com um valor médio de $13,90 \pm 0,06$, que pode ser comparado aos valores de força obtidos neste estudo, e que foram consideravelmente mais baixos. Herrero et al. (2008) analisaram diferentes tipos de salsichas cozidas, cujos valores de dureza foram todos eles altamente superiores aos encontrados neste estudo. A título de exemplo, para a mortadela de porco e vaca, obtiveram um valor de $41,7 \pm 2,6$, pelo que dá para entender que as amostras analisadas neste estudo apresentam uma textura muito pouco convencional para o tipo de produto. Resultados semelhantes foram obtidos por Silva Junior et al. (2020), com valores mínimos de $16,06 \pm 2,10$ para queijo de porco.

O gradiente é um parâmetro da textura relacionado com a elasticidade da amostra. Na **Tabela 16** observa-se um aumento deste parâmetro ao longo do tempo de amostragem, sendo que, por exemplo, para as amostras com carne de porco, os valores médios aumentam de $1,70 \pm 0,74$ N/mm em produto acabado para $2,07 \pm 0,47$ N/mm em fim de validade. É também perceptível que as amostras com carne de porco apresentam valores de gradiente mais elevados. Nomeadamente, no produto acabado os valores para as amostras sem e com carne de porco são, respetivamente, $0,88 \pm 0,51$ e $1,70 \pm 0,74$ N/mm. Assim, tem-se que há uma maior elasticidade para as amostras com carne de porco, e um aumento geral da elasticidade ao longo do tempo.

A área pode ser compreendida como a energia necessária para romper a amostra, e é claramente afetada pelo tipo de produto. As amostras com carne de porco apresentam valores de área muito mais elevados ($26,69 \pm 15,29$ N mm) em relação às amostras sem carne de porco ($17,20 \pm 12,30$ N mm), o que faz sentido tendo em conta que as últimas apresentam valores de força também mais elevados. Herrero et al. (2008), para salsichas cozidas, produtos cárneos que apresentam valores muito mais elevados de dureza, obteve valores muito mais baixos de área, isto é, energia.

5.7. Análise sensorial

Na **Tabela 17** apresenta-se a análise de variância para os resultados da análise sensorial, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

Tabela 17: Análise de variância para os resultados da análise sensorial, considerando os fatores tipo de produto e tempo de amostragem.

ATRIBUTOS	FATORES					
	TP		TA		TP x TA	
	F	p	F	p	F	p
Aspeto	2,2553	0,1349(N.S.)	16,9133	0,0001***	22,1921	0,0000***
Cores	9,9976	0,0018**	70,7805	0,0000***	6,7770	0,0099**
Estranhas						
Marmoreado	7,5365	0,0067**	1,6837	0,1961(N.S.)	4,8335	0,0292*
Intensidade	2,0935	0,1496(N.S.)	1,9461	0,1647(N.S.)	1,3439	0,2479(N.S.)
Cheiro						
Cheiros	5,4710	0,0204*	13,2157	0,0004***	0,6679	0,4149(N.S.)
Estranhos						
Dureza	30,3250	0,0000***	9,6980	0,0021**	4,2022	0,0418*
Fibrosidade	1,0111	0,3160(N.S.)	3,1234	0,0789(N.S.)	5,3536	0,0218*
Suculência	37,6898	0,0000***	16,2583	0,0001***	0,0633	0,8016(N.S.)
Intensidade	31,3886	0,0000***	4,2350	0,0410*	0,2467	0,6200(N.S.)
Sabor						
Sabores	0,3614	0,3614(N.S.)	40,2669	0,0000***	0,7879	0,3759(N.S.)
negativos						
Intensidade	47,4828	0,0000***	8,0908	0,0050**	6,3862	0,0124*
salga						
AG	0,1979	0,6569(N.S.)	36,3543	0,0000***	2,5153	0,1145(N.S.)

N.S.: não significativo; * significativo para $p < 0,05$; ** significativo para $p < 0,01$; *** significativo para $p < 0,001$.

Analisando a **Tabela 17**, é possível compreender que existe uma grande variância nos resultados obtidos. O fator tipo de produto revelou-se altamente significativo ($p < 0,001$) para os atributos dureza, suculência, intensidade sabor e intensidade salga, muito significativo ($p < 0,01$) para as variáveis cores estranhas e marmoreado, significativo ($p < 0,05$) para cheiros estranhos e não significativo ($p \geq 0,05$) para as restantes variáveis. O fator tempo de amostragem revelou-se não significativo ($p \geq 0,05$) para marmoreado, intensidade cheiro e fibrosidade, significativo ($p < 0,05$) para intensidade sabor, muito significativo ($p < 0,01$) para dureza e intensidade salga e altamente significativo ($p < 0,001$) para as restantes variáveis. Quanto à interação entre os dois fatores, esta revelou-se altamente significativa ($p < 0,001$) para a variável aspeto, muito significativa ($p < 0,01$)

para cores estranhas, significativa ($p < 0,05$) para as variáveis marmoreado, dureza, fibrosidade e intensidade salga, e não significativa ($p \geq 0,05$) para as restantes variáveis.

Na **Tabela 18** apresentam-se os valores médios e os desvios padrão para a análise sensorial.

Tabela 18: Resultados de ANOVA com dois fatores para parâmetros de análise da avaliação sensorial, em relação ao tipo de produto e tempo de amostragem.

TP	CX		CX + PORCO	
	0	60	0	60
Aspetto	66,86±14,73 ^a	68,43±24,83 ^{a,b}	75,28±10,54 ^b	52,13±20,62 ^c
Cores Estranhas	0,00±0,00 ^a	4,33±7,87 ^b	0,42±2,65 ^a	8,63±8,10 ^c
Marmoreado	34,67±25,30 ^a	49,80±25,88 ^{a,b}	56,07±31,81 ^b	52,17±24,76 ^a
Intensidade Cheiro	65,94±16,47	65,33±18,89	65,20±12,39	58,63±20,18
Cheiros Estranhos	0,00±0,00 ^a	1,67±5,14 ^{a,b}	0,90±2,45 ^a	3,53±7,10 ^b
Dureza	31,36±13,72 ^a	42,77±16,74 ^b	48,05±10,70 ^b	50,40±17,53 ^b
Fibrosidade	20,91±25,60 ^a	7,47±6,28 ^b	16,60±22,45 ^{a,b}	18,40±15,20 ^{a,b}
Suculência	65,03±15,25 ^a	50,87±28,07 ^b	43,90±22,51 ^b	31,40±21,11 ^c
Intensidade sabor	76,12±8,64 ^a	69,47±16,25 ^{a,b}	60,23±21,81 ^{b,c}	56,17±18,19 ^c
Sabores negativos	0,15±1,23 ^a	4,97±6,89 ^b	0,13±1,03 ^a	3,77±7,74 ^b
Intensidade salga	57,79±14,67 ^a	66,53±11,74 ^c	50,68±4,58 ^b	51,20±3,53 ^b
AG	70,59±10,58 ^a	53,97±12,02 ^b	68,10±14,31 ^a	58,40±20,08 ^b

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes (Teste de Tukey) para $p < 0,05$.

T0: produto acabado; T60: fim de validade; ND: não detetado

Por questões que se prendem com a segurança dos alimentos, as amostras 301-312 não foram submetidas a avaliação sensorial, devido aos resultados microbiológicos obtidos, que apontam para a presença de *Listeria monocytogenes* numa das amostras.

A observação da **Tabela 18** permite aferir que houve diferenças estatisticamente significativas entre fatores para todos os parâmetros, à exceção da variável intensidade de cheiro.

O atributo “aspecto” é nitidamente influenciado pelo tipo de produto, sendo que para o produto acabado o valor obtido pelos provadores para as amostras com carne de porco (75,28±10,54) é altamente superior ao das amostras apenas com bovino (66,86±14,73), o que indica que as primeiras apresentam um aspeto mais atrativo. Relativamente ao tempo de amostragem, este influencia claramente as amostras com carne de porco, cujo valor diminui bastante (52,13±20,62), indicando que o aspeto das amostras foi deteriorando ao longo do tempo. O aspeto das amostras apenas com carne de bovino não foi agravado com o tempo.

O atributo “cores estranhas” foi claramente influenciado tanto pelo tipo de produto como pelo tempo de amostragem. As amostras com carne de porco apresentaram mais cores estranhas tanto no produto acabado como em fim de validade, sendo que para o produto acabado, as amostras apenas com carne de bovino apresentaram um valor nulo. Em fim de validade os valores aumentaram ligeiramente em ambos os tipos de produto: $4,33 \pm 7,87$ para as amostras sem carne de porco e $8,63 \pm 8,10$ para as amostras com carne de porco, o que aponta para uma maior presença de cores estranhas nos produtos em fim de validade. Os comentários provenientes dos provadores dão uma grande ênfase a cores estranhas encontradas nas amostras em fim de validade. Enquanto as amostras sem carne de porco apresentavam uma cor castanha em excesso, as amostras com carne de porco apresentavam uma cor esbranquiçada e “desmaiada”, o que pode confirmar o aumento dos valores de L^* na determinação da cor. Em Laranjo et al. (2019) foram obtidos valores mais baixos depois de três meses de armazenamento, principalmente em relação aos valores obtidos para as amostras com carne de bovino e porco, e tendo em conta que as amostras avaliadas nesse estudo eram apenas de porco.

O atributo "marmoreado" é mais elevado no produto acabado para as amostras com carne de porco ($56,07 \pm 31,81$) do que para as que não contêm porco na sua composição ($34,67 \pm 25,30$), facto indicado nos comentários deixados pelos provadores, que referem que as amostras sem carne de porco apresentam um marmoreado muito heterogéneo ou ausente, enquanto as amostras com carne de porco apresentam um marmoreado mais idêntico ao que seria de esperar para um produto deste tipo. Isto pode ser explicado pelo facto de estas últimas apresentarem uma quantidade consideravelmente superior de teor em lípidos. Ao longo do tempo este primeiro valor não aumenta significativamente ($52,17 \pm 24,76$), ao contrário do que acontece para as amostras sem carne de porco, cujo valor é significativamente mais elevado ($49,80 \pm 25,88$). Laranjo et al. (2019) obtiveram valores semelhantes, que se mantiveram também constantes ao longo do período de armazenamento. Após dois meses de armazenamento, em Laranjo et al. (2018) o valor obtido foi também semelhante aos obtidos neste estudo.

O atributo “intensidade de cheiro” não apresentou alterações significativas em função do tipo de produto ou tempo de amostragem, tendo havido apenas uma diminuição da intensidade de cheiro para as amostras com carne de porco, ao longo do tempo. Os valores obtidos para o produto acabado foram $65,94 \pm 16,47$ e $65,20 \pm 12,39$ para as amostras sem carne de porco e com carne de porco, respetivamente, e em fim de validade foram $65,33 \pm 18,89$ e $58,63 \pm 20,18$. Analogamente ao obtido nas amostras com carne de porco, também em Laranjo et al. (2019) houve uma diminuição da intensidade de cheiro durante os três meses de armazenamento.

O atributo "cheiros estranhos" é influenciado por ambos os fatores. A presença de cheiros estranhos é mais evidente nas amostras com carne de porco ($0,90 \pm 2,45$) do que nas que apresentam apenas carne de bovino. Estes valores sofrem um aumento considerável ao longo do armazenamento ($3,53 \pm 7,10$ e $1,67 \pm 5,14$, respectivamente), o que vai de encontro ao esperado, uma vez que os produtos se encontram em fim de validade. Os comentários deixados pelos provadores mencionam cheiro ácido, a vinagre, particularmente nas amostras com carne de porco. Os autores citados obtiveram valores mais elevados, sendo que após três meses de armazenamento, o valor médio obtido foi $11,36 \pm 9,60$.

O atributo "dureza" é também influenciado pelos fatores tipo de produto e tempo de amostragem. As amostras com carne de porco apresentam uma maior dureza ($48,05 \pm 10,70$) que as restantes ($31,36 \pm 13,72$), o que também se observa em fim de validade, tendo havido um aumento dos valores ao longo do tempo ($50,40 \pm 17,53$ e $42,77 \pm 16,74$, respectivamente). Estes resultados vão de encontro ao obtido na análise da textura. Tendo em conta que o valor ótimo para este parâmetro é 50, pode concluir-se que as amostras com carne de porco apresentam uma textura mais agradável. Valores idênticos aos das amostras com carne de porco foram obtidos por Laranjo et al. (2019) e Laranjo et al. (2018), sendo que todos os valores rondam o valor médio de 50, valor ideal para este parâmetro. Os valores obtidos para as amostras sem carne de porco confirmam os resultados obtidos na determinação da textura, isto é, que as amostras não apresentam uma textura adequada ao tipo de produto.

Relativamente ao atributo "fibrosidade", obtiveram-se valores mais elevados no produto acabado para as amostras de carne de bovino ($20,91 \pm 25,60$) em detrimento das amostras com adição de carne de porco ($16,60 \pm 22,45$). No entanto, o valor para as primeiras desceu significativamente ao fim dos 60 dias de validade ($7,47 \pm 6,28$) enquanto para as amostras com carne de porco, o valor não alterou significativamente ($18,40 \pm 15,20$). Ainda que os valores obtidos tenham sido mais elevados que os deste estudo, em Laranjo et al. (2019) observaram um comportamento idêntico ao das amostras sem carne de porco. Os valores diminuíram de $22,52 \pm 20,77$ para $13,17 \pm 10,87$.

O atributo correspondente à "suculência" sofreu alterações em função do tempo de amostragem e tipo de produto das amostras. As amostras apenas com carne de bovino apresentaram maior suculência que as amostras com carne de porco, sendo que os valores médios foram $65,03 \pm 15,25$ e $43,90 \pm 22,51$, respectivamente. Ao longo do tempo, a perda de suculência foi evidente em ambos os tipos de amostras, cujos valores diminuíram para $50,87 \pm 28,07$ e $31,40 \pm 21,11$, respectivamente. As amostras avaliadas pelos autores citados

apresentaram, no geral, valores ligeiramente mais elevados para este parâmetro. Em Laranjo et al. (2019) é possível observar também que não houve uma diminuição dos valores ao longo do tempo de armazenamento.

O atributo “intensidade de sabor” revelou valores iniciais ligeiramente mais elevados para as amostras sem carne de porco, com um valor médio de $76,12 \pm 8,64$, sendo que o valor médio obtido para as restantes foi consideravelmente mais baixo ($60,23 \pm 21,81$). Ambos os tipos de amostras sofreram uma perda de intensidade de sabor considerável em fim de validade. Destaca-se nos comentários dos provadores a referência ao sabor intenso a pimenta, que se encontrava presente em grãos inteiros. Os valores obtidos pelos autores referenciados são mais baixos, o que indica uma menor intensidade de sabor. Todavia, a diminuição desta é evidente em Laranjo et al. (2019), tal como acontece neste estudo.

Relativamente ao atributo “sabores negativos”, os valores obtidos sofreram um claro aumento ao longo do tempo de amostragem, sendo que não existem diferenças muito significativas entre tipos de produto. As amostras sem carne de porco apresentam valores ligeiramente superiores. Nomeadamente em fim de validade, os comentários dos provadores fazem referência a um sabor amargo das amostras. Valores mais elevados foram obtidos pelos autores citados, sendo que no produto acabado, Laranjo et al. (2019) obtiveram um valor de $5,07 \pm 15,78$. O tempo de amostragem também não teve o mesmo efeito, tendo havido uma diminuição dos sabores negativos, ao invés de um aumento.

Para o atributo “intensidade de salga”, os valores foram, no geral, mais elevados para as amostras sem carne de porco, como referido nos comentários dos provadores, que apontam para amostras muito salgadas. No produto acabado, os valores foram $57,79 \pm 14,67$ e $50,68 \pm 4,58$, para as amostras sem e com carne de porco, respetivamente. Em fim de validade o valor obtido para as primeiras aumenta para $66,53 \pm 11,74$, e o valor médio para as amostras com carne de porco permanece constante ($51,20 \pm 3,53$). Tendo em conta que o valor ideal para a intensidade de sal é 50, pode concluir-se que as amostras com carne de porco apresentam, no geral, um teor adequado do mesmo, facto que se observa também para os autores citados, cujos valores também se mantiveram próximos dos 50. As amostras sem carne de porco parecem apresentar um teor mais elevado de sal.

A avaliação global, para o produto acabado foi mais positiva para as amostras sem carne de porco, enquanto em fim de validade foi mais positiva para as amostras com carne de porco, apesar de os valores médios terem sido bastante semelhantes. Os valores para fim de validade foram claramente mais baixos, o que seria de esperar tendo em conta que os produtos atingem

o seu fim de validade. Em Laranjo et al. (2019), obtiveram-se valores mais baixos no produto acabado ($62,78 \pm 15,16$), mas que se mantiveram nos dois meses de armazenamento, enquanto que neste estudo houve uma diminuição considerável dos valores durante o armazenamento.

No geral, as amostras de cabeça de xara de Cachena obtiveram uma aceitação mais elevada, provavelmente devido a uma maior suculência e intensidade de sabor, ainda que as amostras sem carne de porco também tenham tido uma aceitação bastante semelhante, particularmente em termos de dureza e aspeto. Ao longo do tempo é evidente uma diminuição da qualidade e aceitação dos produtos, o que é expectável, tendo em conta o tempo de armazenamento ao qual foram submetidas e o facto de corresponder ao fim de validade estimada dos produtos. No entanto, e tendo em conta a análise descritiva dos provadores, a aceitação de ambos os produtos é questionável, por variados motivos. O produto é visto como algo completamente diferente de uma cabeça de xara tradicional, quer em termos de textura, quer em termos de teor em lípidos. A textura é comparada à de um patê, feito para barrar, algo que não se consegue fatiar, uma vez que o produto não está “ligado” entre si. Em termos de teor em lípidos, os provadores descrevem-na como não existente, algo que não seria expectável encontrar numa cabeça de xara tradicional. Além disso, em termos de sabor, os produtos são descritos como muito salgados e com muita pimenta. Em fim de validade, a intensidade de salga permanece elevada e destaca-se ainda a acidez/amargura. Em termos de cheiro, as amostras parecem ter um cheiro a ácido, ao que parece proveniente do vinagre utilizado na confeção e, que poderá estar relacionado com o sabor amargo e ácido.

6. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

Os produtos cárneos, tal como outros géneros alimentícios, sofrem inúmeras alterações físico-químicas, bioquímicas e microbianas durante o período de conservação, induzindo o processo de deterioração e a redução do período de vida útil.

O tipo de carne utilizada nos produtos afetou todos estudos efetuados à exceção das análises físico-químicas, nas quais o pH e a_w foram idênticos entre os tipos de produtos. O tempo de amostragem mostrou-se apenas relevante para os valores de pH, que desceram ligeiramente, ao passo que a a_w se manteve constante. A semelhança dos valores de a_w relativamente aos referidos na literatura e valores de pH ligeiramente mais baixos, resultou em amostras mais estáveis.

As amostras apresentaram composições centesimais claramente distintas. As amostras de bovino da raça Cachena apresentaram menor percentagem de teor em lípidos e proteína, e maior teor em humidade e em cinzas. A determinação do teor em cinzas tem como objetivo a quantificação de resíduo inorgânico, ou resíduo mineral fixo como o sódio, potássio, magnésio, cálcio, ferro, entre outros minerais, indispensáveis ao bom funcionamento do organismo, nomeadamente à regulação da atividade e manutenção celular. As proteínas, fundamentais para a formação de enzimas, anticorpos e hormonas, aliadas ainda a uma maior quantidade de humidade, garantiram às amostras um maior valor nutricional. De salientar que o tipo de produto com maior valor energético foi o produto com carne de porco.

As análises microbiológicas não dependeram muito do tipo de produto, ainda que as amostras com adição de carne de porco tenham tido, no geral, valores mais elevados de microrganismos. O tempo de armazenamento teve um efeito perceptível nos valores obtidos, sendo que estes, como seria expectável, aumentaram no fim de validade estimada dos produtos (60 dias). A segurança dos produtos cárneos não foi comprometida pelos microrganismos *Clostridium perfringens* e *Salmonella spp.*, tendo havido apenas uma amostra com contagens para *Listeria monocytogenes*. Os valores obtidos foram, no geral, mais elevados que os citados na bibliografia.

A análise do perfil de aminas biogénicas revelou uma maior abundância das aminas putrescina, cadaverina e histamina, como esperado. As amostras com adição de porco obtiveram valores mais elevados de aminas, o que insinua uma menor qualidade das mesmas. Tal já seria de esperar tendo em conta que estas amostras também obtiveram, no geral, valores

microbiológicos mais elevados. Os valores obtidos foram, no geral, semelhantes aos dos artigos citados.

O tempo de amostragem e o tipo de produto não mostraram grande influência nos resultados obtidos para a determinação da cor. As amostras apenas com carne de bovino apresentaram cores mais saturadas e vibrantes, com valores mais elevados do parâmetro C*. Contrariamente ao relatado na literatura, os valores para H° vão aumentando ao longo do tempo de armazenamento.

A análise da textura revela um claro aumento da força necessária para penetrar a amostra, ao longo do tempo de amostragem, o que se pode traduzir num aumento da dureza durante o tempo de armazenamento. O gradiente revelou um aumento da elasticidade das amostras ao longo do tempo. As amostras com carne de porco apresentaram maior dureza e elasticidade.

A análise sensorial é uma avaliação muito vantajosa na comparação dos dois tipos de produtos. Apesar de ambos os produtos terem tido uma avaliação muito positiva por parte dos provadores, o parâmetro da avaliação global ajuda a entender que as amostras sem adição de carne de porco, no produto acabado, obtiveram uma aceitação ligeiramente superior, com melhor suculência e intensidade de sabor. Em fim de validade, as amostras com carne de porco apresentam melhor AG.

Concluindo, a adição de porco à cabeça de xara de bovino, contribui para um maior desenvolvimento microbiano e de AB, que afetam negativamente a qualidade e segurança dos produtos.

Em relação à segurança e qualidade, o único problema de segurança encontrado, foi o desenvolvimento de *L. monocytogenes* numa das amostras durante o armazenamento das mesmas. A higiene dos produtos foi posta em causa pelos valores elevados de enterobactérias, que ultrapassaram os valores legislados. A contagem de colónias aeróbias revelou valores elevados de leveduras e BAL, para os produtos em fim de validade, que contribuem para a deterioração dos mesmos. Como já considerado anteriormente, a contaminação destes produtos parece ocorrer durante o seu manuseamento e confeção e, portanto, antes do embalamento. Assim, uma técnica de conservação após o embalamento, como é o caso da pasteurização pós-embalagem, pode resolver o problema, garantindo assim um produto seguro. Esta técnica é muito usada na indústria das carnes e produtos cárneos, sobretudo, produtos cárneos prontos para consumo, especialmente, mas não só, para eliminação de *L. monocytogenes*.

Para completar a caracterização do produto, poderia ser interessante realizar uma análise da composição em ácidos gordos dos dois produtos, visto que ambos são produtos novos, sobre os quais não existem estudos prévios.

Quanto à questão do aproveitamento das carnes duras da raça Cachena que, seriam rejeitadas pelo consumidor, para a confeção de cabeça de xara de Cachena, a ideia tem potencial para ser aceite para comercialização, desde que sofra algumas alterações. Primeiramente, e para ser considerada uma cabeça de xara, a textura tem que aperfeiçoada. Uma hipótese poderá ser apostar na adição de carne com mais teor de lípidos. O aumento do teor em lípidos, poderá ajudar a que a “massa” fique mais “ligada”, conferindo-lhe uma textura mais adequada ao tipo de produto. Na impossibilidade de contornar esta situação, e para ser comercializado tal como está, uma alternativa é “vender” o produto como um patê e não como cabeça de xara. Poderiam ainda ser desejáveis alguns ajustes na formulação, como a diminuição de intensidade do teor em sal e a presença de grãos de pimenta inteiros, ambos aspetos negativos referidos pelo painel de provadores.

7. REFERÊNCIAS

- Adriano, E., Leonel, S., & Evangelista, R. M. (2011). Qualidade de fruto da aceroleira cv. Olivier em dois estádios de maturação. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(spe1), 541–545. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452011000500073>
- Ahangari, H., Yazdani, P., Ebrahimi, V., Soofiyan, S. R., Azargun, R., Tarhriz, V., & Eyvazi, S. (2021). An Updated review on production of food derived bioactive peptides; focus on the psychrotrophic bacterial proteases. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35(June), 102051. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102051>
- Al-Mutairi, M. F. (2011). The incidence of enterobacteriaceae causing food poisoning in some meat products. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(2), 116–121.
- Alakomi, H. L., & Saarela, M. (2009). Salmonella importance and current status of detection and surveillance methods. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 1(3), 142–152. <https://doi.org/10.1111/j.1757-837X.2009.00032.x>
- Alberto, M. R., Arena, M. E., & Manca de Nadra, M. C. (2002). A comparative survey of two analytical methods for identification and quantification of biogenic amines. *Food Control*, 13(2), 125–129. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(01\)00051-2](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(01)00051-2)
- Alfaia, C. M., Castro, M. F., Reis, V. A., Prates, J. M., De Almeida, I. T., Correia, A. D., & Dias, M. A. (2004). Changes in the profile of free amino acids and biogenic amines during the extended short ripening of portuguese dry-cured ham. *Food Science and Technology International*, 10(5), 297–304. <https://doi.org/10.1177/1082013204047597>
- Alfaia, C. M. M., Alves, S. P., Lopes, A. F., Fernandes, M. J. E., Costa, A. S. H., Fontes, C. M. G. A., Castro, M. L. F., Bessa, R. J. B., & Prates, J. A. M. (2010). Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat. *Meat Science*, 84(4), 769–777. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.11.014>
- Alvarez, M. A., & Moreno-Arribas, M. V. (2014). The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends in Food Science and Technology*, 39(2), 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.07.007>
- Amaral, A. B., Silva, M. V. Da, & Lannes, S. C. D. S. (2018). Lipid oxidation in meat: Mechanisms

- and protective factors - a review. *Food Science and Technology*, 38, 1–15.
<https://doi.org/10.1590/fst.32518>
- Andrews, W. H., Flowers, R. S., Silliker, J., Bailey, J. S., Downes, F. P., & Ito, K. (2001).
Salmonella. In *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (4th
Ed., pp. 357–380). American Public Health Association.
- Anl, R. E., & Bayram, M. (2008). Biogenic amines in wines. *Food Reviews International*, 25(1),
86–102. <https://doi.org/10.1080/87559120802458552>
- Asp, N. G. (1994). Nutritional classification and analysis of food carbohydrates. *American
Journal of Clinical Nutrition*, 59(3 SUPPL.), 679–681.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/59.3.679Sa>
- Associação de criadores da raça Cachena. (2010). *ACRC-Cachena*. <https://www.cachena.pt/>
- Atil, E., Ertas, H. B., & Ozbey, G. (2011). Isolation and molecular characterization of *Listeria* spp.
from animals, food and environmental samples. *Veterinarni Medicina*, 56(8), 386–394.
<https://doi.org/10.17221/1551-VETMED>
- Aydin, A., Sudagidan, M., & Muratoglu, K. (2011). Prevalence of staphylococcal enterotoxins,
toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated
in the Marmara Region of Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 148(2), 99–
106. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.007>
- Bardasi, L., Bonilauri, P., Rugna, G., Galletti, G., Fedrizzi, G., Santandrea, G., Gandolfi, P., Vecchi,
G., & Merialdi, G. (2010). Growth of naturally occurring *Listeria innocua* in coppa di testa.
Italian Journal of Food Safety, 1(8), 35. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2010.8.35>
- Barden, L., & Decker, E. A. (2013). Lipid oxidation in low-moisture food: A review. *Critical
Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(15), 2467–2482.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2013.848833>
- Bardócz, S. (1995). Polyamines in food and their consequences for food quality and human
health. *Trends in Food Science and Technology*, 6(10), 341–346.
[https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89169-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89169-4)
- Barretto, T. L., Pollonio, M. A. R., Telis-Romero, J., & da Silva Barretto, A. C. (2018). Improving
sensory acceptance and physicochemical properties by ultrasound application to
restructured cooked ham with salt (NaCl) reduction. *Meat Science*, 145(May), 55–62.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.05.023>

- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Scieberle, P. (2009). *Food chemistry* (4th Ed.). Springer.
- Beresford, M. R., Andrew, P. W., & Shama, G. (2001). *Listeria monocytogenes* adheres to many materials found in food-processing environments. *Journal of Applied Microbiology*, *90*(6), 1000–1005. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01330.x>
- Blair, G. W. S. (1958). Rheology in food research. *Advances in Food Research*, 1–61.
- Boles, J. A., & Pegg, R. (2010). Meat Color: Basic Meat Color. *Food Product Innovation*, 14–17. [http://www.cfs.purdue.edu/FN/fn453/meat color.pdf](http://www.cfs.purdue.edu/FN/fn453/meat%20color.pdf)
- Bonnet, C., Bouamra-Mechemache, Z., Réquillart, V., & Treich, N. (2020). Viewpoint: Regulating meat consumption to improve health, the environment and animal welfare. *Food Policy*, *97*(February), 101847. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2020.101847>
- Borch, E., Kant-Muemansb, M.-L., & Blixt, Y. (1996). *Bacterial spoilage of meat and cured meat products*. *33*, 103–120.
- Borilova, G., Hulankova, R., Svobodova, I., Jezek, F., Hutarova, Z., Vecerek, V., & Steinhäuserova, I. (2016). The effect of storage conditions on the hygiene and sensory status of wild boar meat. *Meat Science*, *118*, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.024>
- Bouchereau, A., Guénot, P., & Larher, F. (2000). Analysis of amines in plant materials. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, *747*(1–2), 49–67. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.1147.1273>
- Bourne, M. C. (1990). Basic Principles of Food Texture Measurement. *Dough Rheology and Baked Product Texture*, 331–341. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0861-4_6
- Bover-Cid, S., Latorre-Moratalla, M. L., Veciana-Nogués, M. T., & Vidal-Carou, M. C. (2014). Processing contaminants: biogenic amines. In Yasmine Motarjemi (Ed.), *Encyclopedia of Food Safety* (pp. 381–391). Waltham: Academic Press.
- Brennan, J. G. (1989). Texture Perception and Measurement. *Sensory Analysis of Foods*, 69–101.
- Broncano, J. M., Petrón, M. J., Parra, V., & Timón, M. L. (2009). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in Latissimus dorsi muscle of Iberian pigs. *Meat Science*, *83*(3), 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.021>

- Brøndum, J., Byrne, D. V., Bak, L. S., Bertelsen, G., & Engelsen, S. B. (2000). Warmed-over flavour in porcine meat - a combined spectroscopic, sensory and chemometric study. *Meat Science*, *54*(1), 83–95. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00085-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00085-6)
- Cachaldora, A., García, G., Lorenzo, J. M., & García-Fontán, M. C. (2013). Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics and the shelf-life of “morcilla”, a typical cooked blood sausage. *Meat Science*, *93*(2), 220–225. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.08.028>
- Capillas, R. C., & Colmenero, J. F. (2010). Effect of an argon-containing packaging atmosphere on the quality of fresh pork sausages during refrigerated storage. *Food Control*, *21*(10), 1331–1337. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.005>
- Cauchie, E., Delhalle, L., Taminiau, B., Tahiri, A., Korsak, N., Burteau, S., Fall, P. A., Farnir, F., Baré, G., & Daube, G. (2020). Assessment of Spoilage Bacterial Communities in Food Wrap and Modified Atmospheres-Packed Minced Pork Meat Samples by 16S rDNA Metagenetic Analysis. *Frontiers in Microbiology*, *10*(January), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03074>
- CE. (2005). Regulamento (CE) N° 2073/2005 - Critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial Da União Europeia*, *L 338*, 1–26.
- Centers for Disease Control & Prevention. (2018). Estimates of Foodborne Illness in the United States.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2011). Outbreak of invasive listeriosis associated with the consumption of hog head cheese--Louisiana, 2010. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, *60*(13), 401–405.
- Chaijan, M., & Panpipat, W. (2017). Mechanism of oxidation in foods of animal origin. In R. Banerjee, A. K. Verma, & M. . Siddiqui (Eds.), *Natural Antioxidants. Applications in Foods of Animal Origin* (pp. 1–38). Apple Academic Press, Inc.
- Charmpi, C., Van der Veken, D., Van Reckem, E., De Vuyst, L., & Leroy, F. (2020). Raw meat quality and salt levels affect the bacterial species diversity and community dynamics during the fermentation of pork mince. *Food Microbiology*, *89*(January), 103434. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103434>
- Charneca, R., Nunes, J., & Dividich, J. Le. (2012). Reproductive and Productive Traits of Sows From Alentejano Compared To Sows Large-White X Landrace Genotype. *Utad.Pt*,

- 1(January 2017), 1–17. http://home.utad.pt/~apezn/RPZe/Charneca_2012_1_1.pdf
- Chizzolini, R., Zanardi, E., Dorigoni, V., & Ghidini, S. (1999). Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends in Food Science and Technology*, *10*(4–5), 119–128. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00034-5)
- Choe, J. H., Kim, H. Y., Lee, J. M., Kim, Y. J., & Kim, C. J. (2013). Quality of frankfurter-type sausages with added pig skin and wheat fiber mixture as fat replacers. *Meat Science*, *93*(4), 849–854. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.054>
- Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudine, H. A., & Ismail, N. (2021). A review on bacterial contribution to lignocellulose breakdown into useful bio-products. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(11). <https://doi.org/10.3390/ijerph18116001>
- Claus, J. R. (2007). Color Changes in Cooked Beef. *National Cattlemen's Beef Association*, 1–4.
- Cobos, Á., & Díaz, O. (2015). Chemical Composition of Meat and Meat Products. In P. C. K. Cheung & B. M. Mehta (Eds.), *Handbook of Food Chemistry* (pp. 1–1173). Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5>
- Cocconcelli, P., & Fontana, C. (2015). Bacteria. In F. Toldra (Ed.), *Handbook of Fermented Meat and Poultry* (2nd ed., pp. 117–128). Wiley Blackwell.
- Cosby, D. E., Cox, N. A., Harrison, M. A., Wilson, J. L., Jeff Buhr, R., & Fedorka-Cray, P. J. (2015). Salmonella and antimicrobial resistance in broilers: A review. *Journal of Applied Poultry Research*, *24*(3), 408–426. <https://doi.org/10.3382/japr/pfv038>
- Cunha, L. C. M., Monteiro, M. L. G., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Muchenje, V., de Carvalho, F. A. L., & Conte-Junior, C. A. (2018). Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. *Food Research International*, *111*(February), 379–390. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.041>
- Dağ, S., Akça, D., Karaman, M., Çelebi, Ö., Özen, H., Büyük, F., & Şahin, M. (2013). Use of immunoperoxidase technique in smears prepared from vaginal secretions in early diagnosis of listerial abortions in cattle. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, *19*(1), 1–6. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.6358>
- de Carvalho, F. A. L., Lorenzo, J. M., Pateiro, M., Bermúdez, R., Purriños, L., & Trindade, M. A. (2019). Effect of guarana (*Paullinia cupana*) seed and pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaf extracts on lamb burgers with fat replacement by chia oil emulsion during shelf life

- storage at 2 °C. *Food Research International*, 125(April), 108554.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108554>
- De Lima Júnior, D. M., Do Nascimento Rangel, A. H., Urbano, S. A., & Moreno, G. M. B. (2013). Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. *Acta Veterinaria Brasilica*, 7(1), 14–28.
- De Smet, S., & Vossen, E. (2016). Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science*, 120, 145–156. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.008>
- Delhalle, L., Cauchie, E., Baré, G., Tahiri, A., Taminiau, B., Korsak, N., Burteau, S., Fall, P. A., Farnir, F., & Daube, G. (2020). Modeling the Growth and Interaction Between *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp., and *Leuconostoc gelidum* in Minced Pork Samples. *Frontiers in Microbiology*, 11(April). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00639>
- Doeun, D., Davaatseren, M., & Chung, M. S. (2017). Biogenic amines in foods. *Food Science and Biotechnology*, 26(6), 1463–1474. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0239-3>
- Domínguez, R., Barba, F. J., Gómez, B., Putnik, P., Bursac Kovačević, D., Pateiro, M., Santos, E. M., & Lorenzo, J. M. (2018). Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. *Food Research International*, 113(June), 93–101.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.073>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 1–31. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- Donnenberg, M. (2010). Enterobacteriaceae. In *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases* (7th Ed., pp. 15–34). Churchill Livingstone Elsevier.
- EC. (2011). Commission Regulation (EC) No. 1169/2011 of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers. *Official Journal of the European Union*, L 304, 18–63.
- Echegaray, N., Gómez, B., Barba, F. J., Franco, D., Estévez, M., Carballo, J., Marszałek, K., & Lorenzo, J. M. (2018). Chestnuts and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 82(April), 110–121. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.10.005>
- EFSA. (2013). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA Journal*, 11, 1–250.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3991>

- Ehuwa, O., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2021). Salmonella, food safety and food handling practices. *Foods*, *10*(5), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods10050907>
- Ekmekcioglu, C., Wallner, P., Kundi, M., Weisz, U., Haas, W., & Hutter, H. P. (2018). Red meat, diseases, and healthy alternatives: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *58*(2), 247–261. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1158148>
- Elias, M., Fraqueza, M. J., & Laranjo, M. (2018). Biogenic amines in food: presence and control measures. In J. Stadnik (Ed.), *Biogenic Amines* (pp. 129–175). Nova Science Publishers, Inc.
- Elias, M., Fraqueza, M. J., Laranjo, M., & Patarata, L. (2021). Microbiological hazards associated with salt and nitrite reduction in cured meat products: control strategies based on antimicrobial effect of natural ingredients and protective microbiota. *Current Opinion in Food Science*, *38*, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.027>
- Elizaquível, P., Gabaldón, J. A., & Aznar, R. (2009). Comparative evaluation of RTi-PCR and mini-VIDAS SLM system as predictive tools for the routine detection of salmonella spp. in naturally contaminated food products. *Food Analytical Methods*, *2*(2), 102–109. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9042-3>
- Erickson, M. C. (2002). Lipid oxidation of muscle foods. In C. C. Akoh & D. B. Min (Eds.), *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* (pp. 384–430). Marcel Dekker, Inc.
- Erickson, M. C. (2008). Lipid oxidation of muscles foods. In C. C. Akoh & D. B. Min (Eds.), *Food lipids, chemistry, nutrition and biotechnology* (3rd ed.). CRC Press Taylor & Francis Group.
- Eriksen, J., Zenner, D., Anderson, S. R., Grant, K., & Kumar, D. (2010). Clostridium perfringens in London, July 2009: two weddings and an outbreak. *Eurosurveillance*, *15*(25).
- Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems : A review. *MESC*, *89*(3), 259–279. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.025>
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA-ECDC). (2018). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-Borne Outbreaks in 2017. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5500>
- Fetsch, A., & Johler, S. (2018). Staphylococcus aureus as a Foodborne Pathogen. *Current Clinical Microbiology Reports*, *5*(2), 88–96. <https://doi.org/10.1007/s40588-018-0094-x>

- Flynn, T. T., Kubena, K. S., & Rhee, K. S. (1992). Modification of plasma and hepatic lipids of guinea pigs by feeding high oleic acid pork compared with regular pork. *Journal of Nutrition*, 122(9), 1855–1861. <https://doi.org/10.1093/jn/122.9.1855>
- Fougy, L., Desmonts, M. H., Coeuret, G., Fassel, C., Hamon, E., Hézard, B., Champomier-Vergès, M. C., & Chaillou, S. (2016). Reducing salt in raw pork sausages increases spoilage and correlates with reduced bacterial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(13), 3928–3939. <https://doi.org/10.1128/AEM.00323-16>
- Fraqueza, M. J., Lawal, O. U., Barata, M., Worning, P., Bartels, M. D., Goncalves, L., Paixão, P., Goncalves, E., Toscano, C., Empel, J., Urbaś, M., Domínguez, M. A., Westh, H., de Lencastre, H., & Miragaia, M. (2021). Staphylococcus saprophyticus From Clinical and Environmental Origins Have Distinct Biofilm Composition. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663768>
- FSAI. (2016). *Guidance Note No. 3. Guidelines for the Interpretation of Results of Microbiological Testing of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market (Revision 2)*.
- Fung, D. Y. C. (2014). Yeasts and Molds. In *Encyclopedia of Meat Sciences* (Vol. 2). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00043-X>
- Gardini, F., Martuscelli, M., Caruso, M. C., Galgano, F., Crudele, M. A., Favati, F., Guerzoni, M. E., & Suzzi, G. (2001). Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of Enterococcus faecalis. *International Journal of Food Microbiology*, 64(1–2), 105–117. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00445-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00445-1)
- Gast, R., & Porter, R. (2019). Salmonella infections. *Diseases of Poultry*, 717–753.
- Geeraerts, W., Stavropoulou, D. A., Vuyst, L. De, & Leroy, F. (2019). Meat and meat products. In M. A. Azcarate-Peri, R. R. Arnold, & J. M. Bruno-Bárcena (Eds.), *How Fermented Foods Feed a Healthy Gut Microbiota* (pp. 57–90). Springer. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-28737-5_3
- Ghnimi, S., Budilarto, E., & Kamal-Eldin, A. (2017). The New Paradigm for Lipid Oxidation and Insights to Microencapsulation of Omega-3 Fatty Acids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1206–1218. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12300>
- Gilliss, D., Cronquist, A. B., D'Angelo, M., Blythe, D., Smith, K., Zansky, S., Cieslak, P., Dunn, J., Holt, K., Lance, S., Crim, S., Henao, O., Patrick, M., Griffin, P., & Tauxe, R. (2013). *Incidence*

and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network: Morbidity and Mortality Weekly Report. 62(15), 283–287. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6215a2.htm>

- Girolami, A., Napolitano, F., Faraone, D., & Braghieri, A. (2013). Measurement of meat color using a computer vision system. *Meat Science*, 93(1), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.08.010>
- Glass, K. A., & Doyle, M. P. (1989). Fate of *Listeria monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(6), 1565–1569. <https://doi.org/10.1128/aem.55.6.1565-1569.1989>
- Gómez-Salazar, J. A., Galván-Navarro, A., Lorenzo, J. M., & Sosa-Morales, M. E. (2021). Ultrasound effect on salt reduction in meat products: a review. *Current Opinion in Food Science*, 38(i), 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.030>
- Gómez, B., Barba, F. J., Domínguez, R., Putnik, P., Bursac Kovačević, D., Pateiro, M., Toldrá, F., & Lorenzo, J. M. (2018). Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing. *Trends in Food Science and Technology*, 82(February), 135–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.10.006>
- Gulzar, M., & Zehra, A. (2018). *Staphylococcus aureus*: A brief review. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 4, 020–022. <https://doi.org/10.17352/ijvsr.000031>
- Hassan, K. A., Elbourne, L. D. H., Tetu, S. G., Melville, S. B., Rood, J. I., & Paulsen, I. T. (2015). Genomic analyses of *Clostridium perfringens* isolates from five toxinotypes. *Research in Microbiology*, 166(4), 255–263. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.10.003>
- Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., Praet, N., Bellinger, D. C., de Silva, N. R., Gargouri, N., Speybroeck, N., Cawthorne, A., Mathers, C., Stein, C., Angulo, F. J., Devleeschauwer, B., Adegoke, G. O., Afshari, R., Alasfoor, D., ... Zeilmaier, M. (2015). World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. *PLoS Medicine*, 12(12), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001923>
- Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: Characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 815–836. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>

- Hernández-Hernández, E., Ponce-Alquicira, E., Jaramillo-Flores, M. E., & Guerrero Legarreta, I. (2009). Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Science*, *81*(2), 410–417. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.09.004>
- Herrero, A. M., de la Hoz, L., Ordóñez, J. A., Herranz, B., Romero de Ávila, M. D., & Cambero, M. I. (2008). Tensile properties of cooked meat sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) parameters and physico-chemical characteristics. *Meat Science*, *80*(3), 690–696. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.03.008>
- Hilgarth, M., Behr, J., & Vogel, R. F. (2018). Monitoring of spoilage-associated microbiota on modified atmosphere packaged beef and differentiation of psychrophilic and psychrotrophic strains. *Journal of Applied Microbiology*, *124*(3), 740–753. <https://doi.org/10.1111/jam.13669>
- Huang, L., Jia, Z., & Hwang, C.-A. (2022). Growth and No-Growth boundary of *Listeria monocytogenes* in beef – A logistic modeling. *Food Research International*, *152*.
- Huang, X., & Ahn, D. U. (2019). Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. *Food Science and Biotechnology*, *28*(5), 1275–1285. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00631-7>
- Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, *49*(SUPPL. 1). [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)90044-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90044-4)
- Hutchings, J. B. (2003). *Expectations and the Food Industry. The Impact of Color and Appearance* (1st ed.). Springer US.
- Hygreeva, D., & Pandey, M. C. (2016). Novel approaches in improving the quality and safety aspects of processed meat products through high pressure processing technology - A review. *Trends in Food Science and Technology*, *54*, 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.002>
- Ibrahim, O. O. (2020). Introduction to Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP). *EC Microbiology*, *16*(3), 42-50. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_8
- Illikoud, N., Rossero, A., Chauvet, R., Courcoux, P., Pilet, M. F., Charrier, T., Jaffrès, E., & Zagorec, M. (2019). Genotypic and phenotypic characterization of the food spoilage bacterium *Brochothrix thermosphacta*. *Food Microbiology*, *81*, 22–31.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.015>

- Inguglia, E. S., Zhang, Z., Tiwari, B. K., Kerry, J. P., & Burgess, C. M. (2017). Salt reduction strategies in processed meat products – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 59, 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.016>
- Innocente, N., Biasutti, M., Padovese, M., & Moret, S. (2007). Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. *Food Chemistry*, 101(3), 1285–1289. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.026>
- INSA. (2019). *Valores-guia: Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar*.
- INSA. (2022). *PortFIR. Tabela da composição de alimentos*. <http://portfir.insa.pt/>
- ISO 11290-2. (2014). *Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. - Part 2: Enumeration method*.
- ISO 15214. (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 degrees C*.
- ISO 17410. (2001). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms*.
- ISO 21527-1. (2008). *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95*.
- ISO 21528-2. (2017). *Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae-Part 2: Colony-count technique*.
- ISO 2917. (1999). *Meat and meat products. Determination of pH (Reference method)*. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 4833-1. (2013). *Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique*.
- ISO 5492. (1992). *Sensory analysis — Vocabulary*.
- ISO 5492. (2008). *Sensory Analysis—Vocabulary; ISO: Geneva, Switzerland*.

- ISO 6888-2. (1999). *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs- Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci (Staphylococcus aureus and other Species)- Part 2: Technique using Rabbit Plasma Fibrinogen Agar Medium.*
- ISO 7937. (2004). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of Clostridium perfringens.*
- ISO 8586-1. (1993). *Sensory analysis-General guidance for the selection, training and monitoring of assessors-Part 1: Selected assessors.*
- ISO 8589. (2012). *Sensory analysis-General guidance for the design of test rooms. International Organization for Standardization.*
- Jairath, G., Singh, P. K., Dabur, R. S., Rani, M., & Chaudhari, M. (2015). Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11), 6835–6846. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1860-x>
- James, C., & James, S. J. (2010). Freezing/thawing. In F. Toldrá (Ed.), *Handbook of meat processing* (pp. 105–124). Wiley-Blackwell.
- Jay, J. M. (1998). *Modern Food Microbiology* (5th Ed.). Chapman and Hall.
- Jayawardana, B. C., Warnasooriya, V. B., Thotawattage, G. H., Dharmasena, V. A. K. I., & Liyanage, R. (2019). Black and green tea (*Camellia sinensis* L.) extracts as natural antioxidants in uncured pork sausages. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(2), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13870>
- JH, C. (2016). Lipid Oxidation in Meat. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 06(03), 12–14. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000494>
- Jin, S. K., Jeong, H. J., & Choi, J. S. (2017). Effect of surimi on quality characteristics of dry and semi-dry (non-fermented) pork sausages during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(3), 1370–1377. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9515-4>
- Junior, J. S., Ribeiro, E. R., Pedrão, M. R., & Machado-lunkes, A. (2014). *Headcheese As an Alternative Use of Pork Byproducts : Physicochemical Analysis and Texture Profile . August*, 1–4.
- Kadariya, J., Smith, T. C., & Thapaliya, D. (2014). Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research*

International, 150. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.06.040>

- Kameník, J., Saláková, A., Vyskočilová, V., Pechová, A., & Haruštiaková, D. (2017). Salt, sodium chloride or sodium? Content and relationship with chemical, instrumental and sensory attributes in cooked meat products. *Meat Science*, 131(May), 196–202.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.05.010>
- Kaniou, I., Samouris, G., Mouratidou, T., Eleftheriadou, A., & Zantopoulos, N. (2001). Determination of biogenic amines in fresh unpacked and vacuum-packed beef during storage at 4°C. *Food Chemistry*, 74(4), 515–519. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00172-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00172-8)
- Karovičová, J., & Kohajdová, Z. (2005). Biogenic amines in foods. *Chemical Papers*, 59(1), 70–79. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0239-3>
- Kauffman, R. (2012). Meat composition. In Y. Hui (Ed.), *Handbook of meat and meat processing* (pp. 45–61). CRC Press.
- Keeton, J., & Eddy, S. (2004). Chemical composition. In J. WK, D. C, & D. M (Eds.), *Encyclopedia of meat sciences* (pp. 210–218). Elsevier Academic Press.
- Kerr, W. L., Wang, X., & Choi, S. G. (2005). Physical and sensory characteristics of low-fat Italian sausage prepared with hydrated oat. *Journal of Food Quality*, 28(1), 62–77.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2005.00010.x>
- Khalisanni, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 1(3), 1–13.
- Kim, E., & Choi, J. (2015). The evaluation of metabolizable energy in traditional Korean food for protein sources. *Journal of Ethnic Foods*, 2, 179–185.
- Kortei, N. K., & Akonor, P. T. (2015). Correlation between hue-angle and colour lightness of gamma irradiated mushrooms. *Annals. Food Science and Technology*, 16(1), 98–103.
- Kröckel, L. (2013). The Role of Lactic Acid Bacteria in Safety and Flavor Development of Meat and Meat Products IntechOpen: Londres, Reino Unido,. In *Lactic Acid Bacteria – R&D for Food, Health and Livestock Purposes* (1st ed., pp. 129–156). IntechOpen.
- Labbé, R. (2000). Clostridium perfringens. In *The microbiological safety and quality of food* (pp. 1110–1135). Aspen Publishers.
- Ladero, V., Calles-Enriquez, M., Fernandez, M., & A. Alvarez, M. (2010). Toxicological Effects of

- Dietary Biogenic Amines. *Current Nutrition & Food Science*, 6(2), 145–156.
<https://doi.org/10.2174/157340110791233256>
- Laranjo, M., Agulheiro-Santos, A. C., Potes, M. E., Cabrita, M. J., Garcia, R., Fraqueza, M. J., & Elias, M. (2015). Effects of genotype, salt content and calibre on quality of traditional dry-fermented sausages. *Food Control*, 56, 119–127.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.018>
- Laranjo, M., Fraqueza, M. J., & Elias, M. (2017). The Use of Starter Cultures in Traditional Meat Products. *Journal of Food Quality*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/9546026>
- Laranjo, M., Gomes, A., Agulheiro-Santos, A. C., Potes, M. E., Cabrita, M. J., Garcia, R., Rocha, J. M., Roseiro, L. C., Fernandes, M. J., Fernandes, M. H., Fraqueza, M. J., & Elias, M. (2016). Characterisation of “Catalão” and “Salsichão” Portuguese traditional sausages with salt reduction. *Meat Science*, 116, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.01.015>
- Laranjo, M., Gomes, A., Agulheiro-Santos, A. C., Potes, M. J., Cabrita, M. J., Garcia, R., Rocha, J. M., Roseiro, L. C., Fernandes, M. J., Fraqueza, M. J., & Elias, M. (2017). Impact of salt reduction on biogenic amines, fatty acids, microbiota, texture and sensory profile in traditional blood dry-cured sausages. *Food Chemistry*, 218, 129–136.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.056>
- Laranjo, M., Potes, M. E., Gomes, A., Véstia, J., Garcia, R., Fernandes, M. J., Fraqueza, M. J., & Elias, M. (2019). Shelf-life extension and quality improvement of a Portuguese traditional ready-to-eat meat product with vinegar. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(1), 132–140. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13913>
- Laranjo, M., Potes, M. E., Véstia, J., Gomes, A., Fraqueza, M. J., & Elias, M. (2018). Addition of vinegar to extend the shelf-life of "Cabeça de Xara". *Archivos de Zootecnia*.
- Leroy, F., Aymerich, T., Champomier-Vergès, M. C., Cocolin, L., De Vuyst, L., Flores, M., Leroi, F., Leroy, S., Talon, R., Vogel, R. F., & Zagorec, M. (2018). Fermented meats (and the symptomatic case of the Flemish food pyramid): Are we heading towards the vilification of a valuable food group? *International Journal of Food Microbiology*, 274(December 2017), 67–70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.006>
- Liebana, E., Garcia-Migura, L., Clouting, C., Clifton-Hadley, F. A., Breslin, M., & Davies, R. H. (2003). Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of Salmonella Enteritidis infection in layer farms. *Journal of Applied*

- Microbiology*, 94(6), 1024–1029. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01924.x>
- Lin, M., Zhang, J., & Chen, X. (2018). Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health-promoting properties. *Journal of Functional Foods*, 47(June), 469–479. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.011>
- Linscott, A. J. (2011). Food-Borne Illnesses. *Clinical Microbiology Newsletter*, 33(6), 41–45. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2011.02.004>
- López-Cuellar, M. del R., Rodríguez-Hernández, A. I., & Chavarría-Hernández, N. (2016). LAB bacteriocin applications in the last decade. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 30(6), 1039–1050. <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1232605>
- Lorenzo, J.M., Domínguez, R., & Carballo, J. (2017). Control of lipid oxidation in muscle food by active packaging technology. In R. Banerjee, A. K. Verma, & M. . Siddiqui (Eds.), *Natural Antioxidants: Applications in Foods of Animal Origin* (pp. 343–382). Apple Academic Press Inc.
- Lorenzo, José M., & Gómez, M. (2012). Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. *Meat Science*, 92(4), 610–618. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.06.008>
- Lumley, I. D. (1996). Authenticity of meat and meat products. *Food Authentication*, 108–139. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1119-5_4
- Lund, P., Tramonti, A., & De Biase, D. (2014). Coping with low pH: Molecular strategies in neutralophilic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(6), 1091–1125. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12076>
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., & Jensen, I. J. (2018). Protein determination—method matters. *Foods*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/foods7010005>
- Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100–121. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>
- Manirakiza, P., Covaci, A., & Schepens, P. (2000). Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(1), 93–100. <https://doi.org/10.1006/jfca.2000.0972>
- Marcus, R. T. (2014). Colorimetry. In *Measurement, Instrumentation, and Sensors Handbook*

(2nd ed.). CRC Press.

- Mariutti, L. R. B., & Bragagnolo, N. (2017). Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. *Food Research International*, *94*, 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.003>
- Martín, B., Garriga, M., Hugas, M., Bover-Cid, S., Veciana-Nogués, M. T., & Aymerich, T. (2006). Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive catalase-positive cocci from slightly fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, *107*(2), 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.08.024>
- Martinez-Urtaza, J., Saco, M., De Nova, J., Perez-Piñeiro, P., Peiteado, J., Lozano-Leon, A., & Garcia-Martin, O. (2004). Influence of Environmental Factors and Human Activity on the Presence of Salmonella Serovars in a Marine Environment. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(4), 2089–2097. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2089-2097.2004>
- Martínez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (2006). Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, *94*(2), 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.007>
- Martins, J. M., Neves, J. A., Freitas, A., & Tirapicos, J. L. (2015). Rearing system and oleic acid supplementation effect on carcass and lipid characteristics of two muscles from an obese pig breed. *Animal*, *9*(10), 1721–1730. <https://doi.org/10.1017/S175173111500066X>
- Mataragas, M., Drosinos, E. H., Vaidanis, A., & Metaxopoulos, I. (2006). Development of a predictive model for spoilage of cooked cured meat products and its validation under constant and dynamic temperature storage conditions. *Journal of Food Science*, *71*(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00058.x>
- McClane, B. . (2007). Clostridium perfringens. In M. P. Doyle & L. R. Beuchat (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (third ed., pp. 423–444). ASM Press.
- McClane, B. A., Robertson, S. L., & Li, J. (2013). Clostridium perfringens. In R. Buchanan & M. Doyle (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (Fourth Ed., pp. 465–489). American Society for Microbiology.
- Meilgaard, M. C., Civille, G., & Carr, B. (1999). *Técnicas de avaliação sensorial* (3ª ed.). CRC Press.
- Mekonen, Y. M., & Melaku, S. K. (2014). Significance of HACCP and SSOP in Food Processing Establishments. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, *9*(2), 121–126.

<https://doi.org/10.5829/idosi.wjdfs.2014.9.2.84199>

Merrill, A. L., & Watt, B. K. (1973). Energy value of foods. In *Journal of chemical education* (Vol. 53, Issue 2, p. 80). <https://doi.org/10.1021/ed053p80>

Milovanovic, B., Djekic, I., Miocinovic, J., Djordjevic, V., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Mörlein, D., & Tomasevic, I. (2020). What is the color of milk and dairy products and how is it measured? *Foods*, 9(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9111629>

Mohammed, A. M., Sulieman, A. M. E., Salih, Z. A., & Mahgoub, A. (2015). *Quality Characteristics of Laboratory-Made Mortadella Meat Product*. 5(2), 96–100. <https://doi.org/10.5923/j.food.20150502.04>

Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C., & Toldrá, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 79(March), 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>

Muñoz, M., Bozzi, R., García, F., Núñez, Y., Geraci, C., Crovetto, A., García-Casco, J., Alves, E., Škrlep, M., Charneca, R., Martins, J. M., Quintanilla, R., Tibau, J., Kušec, G., Djurkin-Kušec, I., Mercat, M. J., Riquet, J., Estellé, J., Zimmer, C., ... Óvilo, C. (2018). Diversity across major and candidate genes in European local pig breeds. *PLoS ONE*, 13(11), 1–30. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207475>

Naila, A., Flint, S., Fletcher, G., Bremer, P., & Meerdink, G. (2010). Control of biogenic amines in food - existing and emerging approaches. *Journal of Food Science*, 75(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01774.x>

Nair, M. S., Nair, D. V. T., Kollanoor Johny, A., & Venkitanarayanan, K. (2019). Use of food preservatives and additives in meat and their detection techniques. In *Meat Quality Analysis: Advanced Evaluation Methods, Techniques, and Technologies*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819233-7.00012-4>

Neves, J. A., Freitas, A., Martins, J. M., & Nunes, J. (2008). Alpha-tocopherol content on the semimembranosus muscle of Alentejano pigs reared in intensive and extensive conditions. In L. Costa, P. Zambonelli, & V. Russo (Eds.), *Proceedings of the 6th International Symposium on the Mediterranean Pig* (pp. 165–167).

Neves, J. A., Sabio, E., Freitas, A., & Almeida, J. A. A. (1996). Déposition des lipides intramusculaires dans le porc Alentejano. L'effet du niveau nutritif pendant la croissance

- et du régime alimentaire pendant l'engraissement. *Produzione Animale*, 9, 93–97.
- Nireesha, G., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjana Babu, M., & Lavakumar, V. (2013). Lyophilization/Freeze Drying -An Review. *Ijntps*, 3(4), 87–98.
- Noori, Z., Khanzadi, S., Jamshidi, A., & Seifi, H. A. (2014). *Modeling the effects of Bunium persicum (Black Zira) essential oil, pH, inoculums size and temperature on the growth of Listeria monocytogenes*.
- Nulty, K. M., Soon, J. M., Wallace, C. A., & Nastasijevic, I. (2016). Antimicrobial resistance monitoring and surveillance in the meat chain: A report from five countries in the European Union and European Economic Area. *Trends in Food Science and Technology*, 58, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.010>
- Nunez, M., del Olmo, A., & Calzada, J. (2016). Biogenic amines. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 416–423). Oxford: Academic Press.
- Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., & Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 311–331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>
- Oellingrath, I. M., & Slinde, E. (1985). Color, Pigment and Iron Content of Meat Loaves with Blood, Blood Emulsion, or Mechanically Deboned Meat Added. *Journal of Food Science*, 50(6), 1551–1555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb10531.x>
- Olsen, S. J., MacKinnon, L. C., Goulding, J. S., Bean, N. H., & Slutsker, L. (2000). Surveillance for foodborne-disease outbreaks – United States, 1993–1997. *MMWR CDC Surveill. Summ.*, 49, 1–52.
- Önal, A. (2007). A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 103(4), 1475–1486. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.028>
- Ortolani, C., & Pastorello, E. A. (2006). Food allergies and food intolerances. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 20(3), 467–483.
- Oswell, N. J., Thippareddi, H., & Pegg, R. B. (2018). Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. *Meat Science*, 145(June), 469–479. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.020>

- Paoli, G. C., Bhunia, A. K., & Bayles, D. O. (2005). *Listeria monocytogenes*. In P. M. Fratamico, A. K. Bhunia, & J. L. Smith (Eds.), *Foodborne pathogens. Microbiology and molecular biology*. Caister Academic Press.
- Papadakis, S. E., Abdul-Malek, S., Kamdem, R. E., & Yam, K. L. (2000). A versatile and inexpensive technique for measuring color of foods. *Food Technology*, 5(12), 48–51.
- Pateiro, M., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., Shpigelman, A., Granato, D., & Franco, D. (2018). Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Research International*, 106(December 2017), 1095–1104. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.005>
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- Pereira, A. L. F., & Abreu, V. K. G. (2018). Lipid peroxidation in meat and meat products. In M. A. Mansour (Ed.), *Lipid peroxidation* (pp. 1–14). IntechOpen.
- Pérez-Palacios, T., Ruiz-Carrascal, J., Solomando, J. C., & Antequera, T. (2019). Strategies for Enrichment in ω -3 Fatty Acids Aiming for Healthier Meat Products. *Food Reviews International*, 35(5), 485–503. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1584817>
- Perez, D., & Andujar, G. (1981). Determination of ash content in meat products. *Meat Science*, 5(3), 165–170. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(81\)90001-2](https://doi.org/10.1016/0309-1740(81)90001-2)
- Peruzy, M. F., Murru, N., Yu, Z., Cnockaert, M., Joossens, M., Proroga, Y. T. R., & Houf, K. (2019). Determination of the microbiological contamination in minced pork by culture dependent and 16S amplicon sequencing analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 290(October 2018), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.025>
- Petit, G., Jury, V., de Lamballerie, M., Durantou, F., Pottier, L., & Martin, J. L. (2019). Salt Intake from Processed Meat Products: Benefits, Risks and Evolving Practices. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1453–1473. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12478>
- Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2017). Microbial Spoilage of Foods: Fundamentals. In *The Microbiological Quality of Food* (pp. 1–21). Woodhead Publishing.
- Pexara, E. S., Metaxopoulos, J., & Drosinos, E. H. (2002). Evaluation of shelf life of cured,

- cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages - "Piroski" - Stored under vacuum and modified atmospheres at +4 and +10 °c. *Meat Science*, 62(1), 33–43.
[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00224-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00224-8)
- Plym Forshell, L., & Wierup, M. (2006). Salmonella contamination: A significant challenge to the global marketing of animal food products. *OIE Revue Scientifique et Technique*, 25(2), 541–554. <https://doi.org/10.20506/rst.25.2.1683>
- Pomeranz, Y., & Meloan, C. E. (1994). Determination of Moisture. *Food Analysis*, 23(8), 575–601. <https://doi.org/10.1021/ac60056a004>
- Póvoas Janeiro, J. (1944). A Suinicultura em Portugal: Subsídios biométricos para o estudo do gado suíno nacional. *Boletim Pecuário.*, XII, 3–192.
- Prester, L. (2016). Biogenic amines in ready-to-eat foods. *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*, 397–416.
- Pyper, J. W. (1985). The determination of moisture in solids. *Analytica Chimica Acta*, 170, 159–175. <https://doi.org/10.1038/179762b0>
- QualBov Cachena. (2018). *Grupo operacional QualBov Cachena*.
<http://www.qualbovcachena.uevora.pt/>
- Reichel, J., Kehrenberg, C., & Krischek, C. (2019). Inactivation of *Yersinia enterocolitica* and *Brochothrix thermosphacta* on pork by UV-C irradiation. *Meat Science*, 158(August), 107909. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107909>
- Richards, M. P. (2006). Lipid chemistry and biochemistry. In Y. H. Hui & F. Sherkat (Eds.), *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering* (pp. 8(1)-8(21)). CRC Press.
- Roberts, B. N., Chakravarty, D., Gardner, J. C., Ricke, S. C., & Donaldson, J. R. (2020). *Listeria monocytogenes* response to anaerobic environments. *Pathogens*, 9(3), 1–9.
<https://doi.org/10.3390/pathogens9030210>
- Roseiro, C., Santos, C., Sol, M., Silva, L., & Fernandes, I. (2006). Prevalence of biogenic amines during ripening of a traditional dry fermented pork sausage and its relation to the amount of sodium chloride added. *Meat Science*, 74(3), 557–563.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.03.030>
- Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2005). Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(7–8), 489–599.

<https://doi.org/10.1080/10408690490489341>

Saint-Denis, T., & Goupy, J. (2004). Optimization of a nitrogen analyser based on the Dumas method. *Analytica Chimica Acta*, 515(1), 191–198.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.10.090>

Saláková, A. (2012). Instrumental measurement of texture and color of meat and meat products. *Journal of the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno, Czech Republic.–2012.–Volume*, 107–114.

Saldaña, E., Merlo, T. C., Patinho, I., Rios-Mera, J. D., Contreras-Castillo, C. J., & Selani, M. M. (2021). Use of sensory science for the development of healthier processed meat products: a critical opinion. *Current Opinion in Food Science*, 40, 13–19.

<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.012>

Santos, E. M., González-Fernández, C., Jaime, I., & Rovira, J. (2003). Physicochemical and sensory characterisation of Morcilla de Burgos, a traditional Spanish blood sausage. *Meat Science*, 65(2), 893–898. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00296-6](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00296-6)

Sarker, M. R., Carman, R. J., & McClane, B. A. (1999). Inactivation of the gene (cpe) encoding Clostridium perfringens enterotoxin eliminates the ability of two cpe-positive C. perfringens type A human gastrointestinal disease isolates to affect rabbit ileal loops. *Molecular Microbiology*, 33(5), 946–958. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01534.x>

Scott, W. J. (1953). Water relations of staphylococcus aureus at 30°C. *Australian Journal of Biological Sciences*, 6(4), 549–564. <https://doi.org/10.1071/BI9530549>

Sharif, M. K., Butt, M. S., Sharif, H. R., & Nasir, M. (2017). Sensory Evaluation and Consumer Acceptability. *Handbook of Food Science and Technology*, October, 362–386. https://www.researchgate.net/publication/320466080_Sensory_Evaluation_and_Consumer_Acceptability

Silva Junior, J. C., Schllemer, M. A., Weber, C. I., Tonial, I. B., Senter, L., Prado, N. V., Pedrão, M. R., & Machado-Lunkes, A. (2020). Microbiological quality and physicochemical characteristics of head cheeses produced by different manufacturers. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(5), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14416>

Silva, M. G., Silva, A. B., Giacomini, F., Arzani, V. C., Ferreira, F. L., & Ruggeri, T. (2016). Tingimento de têxteis com o corante natural extraído dos excrementos do bicho-da-seda.

Química Têxtil, 124, 38–44.

- Sim, K., Shaw, A. G., Randell, P., Cox, M. J., McClure, Z. E., Li, M. S., Haddad, M., Langford, P. R., Cookson, W. O., Moffatt, M. F., & Kroll, J. S. (2014). Dysbiosis Anticipating Necrotizing Enterocolitis in Very Premature Infants. *Clinical Infectious Diseases*, 60(3), 389–397.
- Simons, A., Alhanout, K., & Duval, R. E. (2020). Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial origin: Overview of their biology and their impact against multidrug-resistant bacteria. *Microorganisms*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>
- Sipos, L., Nyitrai, Á., Hitka, G., Friedrich, L. F., & Kókai, Z. (2021). Sensory Panel Performance Evaluation — Comprehensive Review of Practical Approaches. *Appl. Sci.*, 11.
- Sofos, J. N. (2013). Meat and meat products. In Y. Motarjemi, G. Moy, & E. Todd (Eds.), *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier.
- Sofos, J. N., Flick, G., Nychas, G.-J., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., & Crandall, P. G. (2013). Meat, poultry and seafood. In M. P. Doyle & R. L. Buchanan (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (4th ed., pp. 109–165). ASM Press.
- Šojić, B., Pavlič, B., Ikonić, P., Tomović, V., Ikonić, B., Zeković, Z., Kocić-Tanackov, S., Jakanović, M., Škaljac, S., & Ivić, M. (2019). Coriander essential oil as natural food additive improves quality and safety of cooked pork sausages with different nitrite levels. *Meat Science*, 157(December 2018). <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107879>
- Soladoye, O. P., Juárez, M. L., Aalhus, J. L., Shand, P., & Estévez, M. (2015). Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2), 106–122. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12127>
- Stadnik, J., & Dolatowski, Z. J. (2010). Biogenic Amines and in the Meat Product. *ACTA Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 9(3), 251–263. www.food.actapol.net
- Stratton, J. E., Hutkins, R. W., & Taylor, S. L. (1991). Biogenic amines in cheese and other fermented foods: A review. *Journal of Food Protection*, 54(6), 460–470. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.6.460>
- Suzzi, G., & Gardini, F. (2003). Biogenic amines in dry fermented sausages: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 88(1), 41–54. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00080-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00080-1)

- Szczesniak, A. S. (1963). Classification of textural characteristics. *Journal of Food Science*, 28, 385–389.
- Szczesniak, A. S. (1987). Correlating Sensory With Instrumental Texture Measurements—an Overview of Recent Developments. *Journal of Texture Studies*, 18(1), 1–15.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1987.tb00566.x>
- Talon, R., Leroy-Sétrin, S., & Fadda, S. (2002). Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products. In F. Toldrá (Ed.), *Research advances in the quality of meat and meat products* (pp. 175–191). Research Singpost.
- Tapia, M. S., Alzamora, S. M., & Chirife, J. (2020). Effects of Water Activity (aw) on Microbial Stability as a Hurdle in Food Preservation. *Water Activity in Foods*, 323–355.
<https://doi.org/10.1002/9781118765982.ch14>
- Tasić, T., Ikonić, P., Mandić, A., Jokanović, M., Tomović, V., Savatić, S., & Petrović, L. (2012). *Biogenic amines content in traditional dry fermented sausage Petrovska klobasa as possible indicator of good manufacturing practice*. 23, 107–112.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.06.019>
- Tatiana, P. R., Eliane, T. M., Robson, M. F., Pereira Mello Silvia, C. ccedil atilde o R., Ivone, C. S., Natalia, O. C. Z., & Monica, Q. de F. (2016). Quality index method (QIM) and quantitative descriptive analysis (QDA) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) quality indices. *African Journal of Agricultural Research*, 11(3), 209–216. <https://doi.org/10.5897/ajar2015.9565>
- Toldrá, Fidel. (2017). *Lawrie's Meat Science: Eight Edition*. Woodhead Publishing.
- Toldrá, Fidel, Aristoy, M. C., Mora, L., & Reig, M. (2012). Innovations in value-addition of edible meat by-products. *Meat Science*, 92(3), 290–296.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.004>
- Torrico, D. D., Hutchings, S. C., Ha, M., Bittner, E. P., Fuentes, S., Warner, R. D., & Dunshea, F. R. (2018). Novel techniques to understand consumer responses towards food products: A review with a focus on meat. *Meat Science*, 144(February), 30–42.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.006>
- U.S. Food and Drug Administration. (2018a). FDA Releases Annual Summary Report on Antimicrobials Sold or Distributed in 2017 for Use in Food-Producing Animals Showing Declines for Past Two Years. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/cvmupdates/fda-releases-annual-summary-report-antimicrobials-sold-ordistributed-2017-use-food->

producing

U.S. Food and Drug Administration. (2018b). HACCP, Hazard Analysis Critical Control Point.

Uzal, F. A., Freedman, J. C., Shrestha, A., Theoret, J. R., Garcia, J., Awad, M. M., Adams, V., Moore, R. J., Rood, J. I., & McClane, B. A. (2014). Towards an understanding of the role of *Clostridium perfringens* toxins in human and animal disease. *Future Microbiology*, *9*(3), 361–377. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.168>

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella. *Meat Science*, *85*(3), 568–576. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.007>

Walker, G. M., & White, N. A. (2017). Introduction to Fungal Physiology. *Fungi: Biology and Applications*, 1–35. <https://doi.org/10.1002/0470015330.ch1>

Wang, X., Tao, X., Xia, X., Yang, B., Xi, M., Meng, J., Zhang, J., & Xu, B. (2013). Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Staphylococcus aureus in retail raw chicken in China. *Food Control*, *29*(1), 103–106. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.002>

Wu, G., Bazer, F. W., Dai, Z., Li, D., Wang, J., & Wu, Z. (2014). Amino acid nutrition in animals: Protein synthesis and beyond. *Annual Review of Animal Biosciences*, *2*, 387–417. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114113>

Yam, K. L., & Papadakis, S. E. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, *61*(1 SPEC.), 137–142. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00195-X)

Yang, Xianqin, Wang, H., Badoni, M., Zawadski, S., McLeod, B., Holman, D., & Uttaro, B. (2020). Effects of a novel three-step sous-vide cooking and subsequent chilled storage on the microbiota of beef steaks. *Meat Science*, *159*(November 2018), 107938. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107938>

Yang, Xiaoyin, Luo, X., Zhang, Y., Hopkins, D. L., Liang, R., Dong, P., & Zhu, L. (2020). Effects of microbiota dynamics on the color stability of chilled beef steaks stored in high oxygen and carbon monoxide packaging. *Food Research International*, *134*(November 2019), 109215. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109215>

Zahid, M. A., Seo, J. K., Park, J. Y., Jeong, J. Y., Jin, S. K., Park, T. S., & Yang, H. S. (2018). The effects of natural antioxidants on protein oxidation, lipid oxidation, color, and sensory

attributes of beef patties during cold storage at 4°C. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(5), 1029–1042. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e36>

Zhang, X., Wang, H., Li, M., Wu, N., & Xu, X. (2016). Near-Freezing Temperature Storage (-2C) for Extension of Shelf Life of Chilled Yellow-Feather Broiler Meat: A Special Breed in Asia. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(2), 340–347. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12611>

Zhang, Y. Y., Zhang, F., Thakur, K., Ci, A. Te, Wang, H., Zhang, J. G., & Wei, Z. J. (2018). Effect of natural polyphenol on the oxidative stability of pecan oil. *Food and Chemical Toxicology*, 119(October 2017), 489–495. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.001>

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

8. ANEXOS

Anexo 1: Ficha de análise sensorial



UNIVERSIDADE DE ÉVORA



ICAM
Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrâneas
Knowledge connecting food, land and people

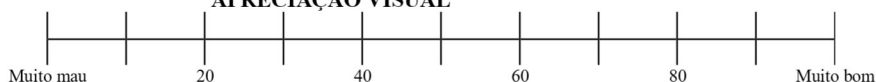
Análise Sensorial de Cabeça de Xara - Ficha de Prova

(Realizado no âmbito do projeto: "Melhoria da qualidade da carne de bovinos da raça Cachena com base em fatores tecnológicos e genéticos")

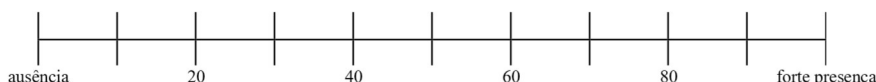
Provedor: _____ Amostra: _____ Data: ___/___/___

APRECIÇÃO VISUAL

ASPECTO

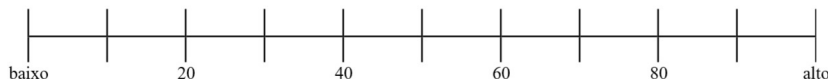


CORES ESTRANHAS



Qual ou quais? _____

MARMOREADO

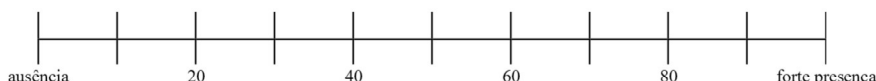


APRECIÇÃO OLFATIVA

INTENSIDADE DO CHEIRO



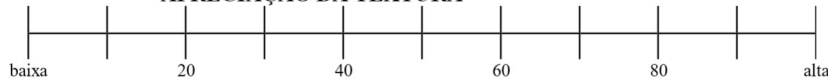
CHEIROS ESTRANHOS



Qual ou quais? _____

APRECIÇÃO DA TEXTURA

DUREZA (Ótimo 50%)



FIBROSIDADE

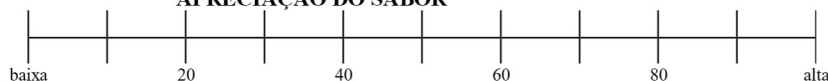


SUCULÊNCIA

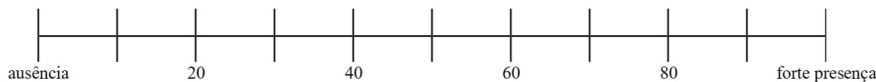


APRECIÇÃO DO SABOR

INTENSIDADE DO SABOR

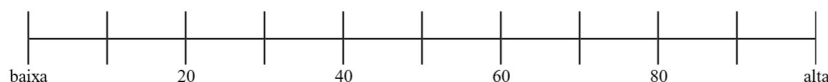


SABORES NEGATIVOS



Qual ou Quais? _____

INTENSIDADE DA SALGA (Ótimo 50%)



APRECIÇÃO GLOBAL

